Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

J. BONNER - PASADENA, **E. BÜNNING** - TÜBINGEN, **A. ERNST** - ZÜRICH
H. v. GUTTENBERG - ROSTOCK, **R. HARDER** - GÖTTINGEN
W. SCHUMACHER - BONN

HERAUSGEGEBEN VON

WILHELM RUHLAND UND **OTTO RENNER**

47. BAND, 6. (SCHLUSS-)HEFT

MIT 29 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 10. OKTOBER 1956)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1956

Planta (Berl.)

Preis DM 21.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Herausgegeben von *W. Ruhland, H. Winkler.* Berlin, Springer. Bis Band 21 als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie, Abteilung E: Planta".

Die Zeitschrift **„Planta"**, Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Wilhelm Ruhland, (14a) *Unterdeufstetten über Crailsheim*

Springer-Verlag

Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28-30, Fernsprecher 27901

---

47. Band **Inhaltsverzeichnis** 6. (Schluß-)Heft

Seite

KLEMM, G., Untersuchungen über den Transpirationswiderstand der Mesophyllmembranen und seine Bedeutung als Regulator für die stomatäre Transpiration. Mit 14 Textabbildungen 547

BELLARTZ, S., Das Pollenschlauchwachstum nach arteigener und artfremder Bestäubung einiger Solanaceen und die Inhaltsstoffe ihres Pollens und ihrer Griffel. Mit 5 Textabbildungen 588

HACCIUS, B., und H. NIES, Über die Wirkung von 2,3,5-Trijodbenzoesäure und von 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure auf die Abgliederung entspreiteter Blattstiele. Mit 4 Textabbildungen 613

STEFFEN, K., Endomitosen im Endosperm von Pedicularis palustris L. Mit 6 Textabbildungen 625

Autorenverzeichnis 653

Planta, Bd. 47, S. 547—587 (1956)

Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Stuttgart
und dem Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN TRANSPIRATIONSWIDERSTAND DER MESOPHYLLMEMBRANEN UND SEINE BEDEUTUNG ALS REGULATOR FÜR DIE STOMATÄRE TRANSPIRATION

Von

GOTTFRIED KLEMM

Mit 14 Textabbildungen

(Eingegangen am 11. April 1956)

Einleitung

Die zahlreichen Arbeiten, die über die Transpiration der Pflanzen und ihre Regulierung erschienen sind, haben dieses Problem noch nicht befriedigend geklärt, wie schon die Widersprüche zwischen den verschiedenen Ergebnissen verdeutlichen.

War man bis in die Jahre um 1900 der Meinung, daß die Transpiration allein durch die Spaltenbewegung geregelt werde, so weisen verschiedene amerikanische Arbeiten, vor allem von BROWN und ESCOMBE (1900), LIVINGSTON (1906), LLOYD (1908) und GATES (1916), darauf hin, daß die Wasserdampfabgabe nicht immer mit der Spaltenbewegung und der Saugkraft der Luft in Einklang zu bringen ist. Es mußte also neben dem veränderlichen Widerstand der Stomata auch noch einen solchen im Innern des Blattes geben. Diesem inneren Widerstand legten LLOYD (1908) und die anderen erwähnten Autoren als Regulationsfaktor für die Transpiration eine größere Bedeutung bei als den Stomata. Da LLOYD bei seinen Transpirationsmessungen fand, daß eine Übereinstimmung zwischen Wasserdampfabgabe und Spaltenweite gänzlich fehlt, ging er so weit, die Regulationswirkung der Spalten ganz in Abrede zu stellen. LIVINGSTON untersuchte bereits 1906 in der Wüste von Arizona Trockenpflanzen in ihrer Beziehung zur Bodenfeuchtigkeit und zur Evaporation und erforschte in einer anderen Arbeit zusammen mit BROWN (1912) den täglichen Transpirationsgang in seiner Beziehung zum Wassergehalt der Laubblätter. Dabei stellten die beiden fest, daß die relative Transpiration jeden Mittag eine merkliche Einschränkung erfährt, die nach ihrer Ansicht nicht durch die Bewegung der Stomata verursacht werden konnte. Sie vermuteten, daß der von ihnen beobachtete Transpirationsrückgang die Folge einer Austrocknung der Zellmembranen ist. Diese Erscheinung nannten sie „*incipient drying*". In Amerika hielten auch BRIGGS und SHANTZ (1912), SHREVE (1914) und KNIGHT (1917) die eben beschriebenen Vorgänge im Rahmen der Transpirationsregulation für wichtiger als die durch die Stomata. DARWIN (1911) und PERTZ (1911) folgern, daß die Abweichung der Transpiration von der Spaltenbewegung nicht ausreicht, eine geringere Bedeutung der Spaltenregulation zu rechtfertigen.

In Deutschland beschäftigte sich mit diesem Problem vor allem RENNER (1910). Er deutete das Austrocknen von Membranen schon vor LIVINGSTON an: „Denn wenn die Wasserzufuhr ausbleibt, müssen die Membranen trockener werden und damit die Transpiration weiter sinken." Aber im Gegensatz zu den genannten

Amerikanern mißt RENNER (1915) bei Blättern mit ausgiebiger stomatärer Transpiration dem incipient drying eine unbedeutende Rolle zu. Eine ähnliche Auffassung wie RENNER vertritt auch HUBER (1923). Daß man in dieser Zeit über die Faktoren der Transpirationsregulierung sehr geteilter Meinung war, beweist ein Satz in dem Lehrbuch von BENECKE und JOST (1924): „Ob das incipient drying oder die Spaltenregulation wichtiger ist für die Transpiration, darüber streiten sich die Gelehrten." RUDOLPH (1925) untersuchte die Permeabilität von Zellwänden. Er findet, daß stark mit Wasser imbibierte Membranen für Säuren viel besser durchlässig sind als nicht imbibierte. Er zitiert in seiner Arbeit unter anderem auch WIESNER, der schon 1882 festgestellt hatte, daß eine Transpirationssteigerung bei imbibierten Blättern sowohl die epidermale als auch die stomatäre Transpiration betrifft. TUMANOW (1927) hat versucht, Einblick in die Widerstandsverhältnisse der Mesophyllzellwände zu gewinnen, seine Methode läßt jedoch Einwände zu. Er geht davon aus, daß unter dem Gefrierpunkt des Wassers sich in den Intercellularen um so „leichter" Eis bildet, je weniger die Zellwände und das Plasma dem Wasseraustritt Widerstand entgegensetzen. Der Einfluß der Temperatur auf die kolloidale Zellmembran ist jedoch so stark, daß die gewonnenen Werte nicht auf die normalen Verhältnisse übertragbar sind (SEYBOLD 1930). Umfangreiche Untersuchungen über die pflanzliche Transpiration sowie eine kritische Sichtung aller bisher darüber erschienenen Literatur lassen SEYBOLD (1929/1930) zu der Ansicht kommen, daß eine Entquellung der Membranen für die Transpiration von Bedeutung sein könne. SEYBOLD zweifelt nicht, daß die Membranen des Mesophyllgewebes unter Umständen einen Widerstand für die Wasserdampfabgabe darstellen; Versuche, die das eindeutig beweisen, führt er jedoch nicht an. Im Gegensatz dazu mißt STÄLFELT (1932) dem Einfluß des incipient drying, bewirkt durch die Mesophyllmembranen, gar keine Bedeutung zu. Zu einem ähnlichen Ergebnis kommt PFLEIDERER (1933).

Es scheint in den folgenden Jahren das Interesse für die cuticuläre Transpiration größer gewesen zu sein als für die Regulationserscheinungen durch die Mesophyllmembranen. So führten GÄUMANN und JAAG (1936) sowie PISEK und BERGER (1938) ausführliche Versuche zur Erforschung des Einflusses des incipient drying auf die cuticuläre Transpiration durch; auf die stomatäre Transpiration gingen sie jedoch nicht ein.

Wohl hat THUT (1938) versucht, Kenntnis über den Dampfsättigungszustand der Intercellularluft zu bekommen, HUBER (1951) hat aber seine Methode und seine Ergebnisse kritisiert und nicht anerkannt. THUT, der an die Versuchsblätter in situ Kämmerchen mit Schwefelsäure verschiedener Konzentration angeklebt hatte und dann deren Gewichtsänderung feststellte, ist zu erstaunlich tiefen Werten für die relative Feuchtigkeit in den Intercellularen gekommen. Nach seinen Messungen soll sie in der Größenordnung von 57—91% liegen.

GEURTEN (1950) untersuchte den Gaswechsel bei Baumrinden und fand, daß die Wasserdampfabgabe unabhängig von der Saugkraft der Luft verlief. Da bei der Rindentranspiration die Regulation durch Stomata wegfällt, nimmt GEURTEN an, daß die beobachtete Einschränkung der Transpiration durch ein incipient drying der Rindenzellmembranen erfolgt. Außer dieser Arbeit sind bis heute keine neuen Untersuchungen über das incipient drying und seine Bedeutung als Regulator bei der Transpiration bekannt geworden. So nimmt es nicht wunder, daß sich immer noch Stimmen gegen den Einfluß des incipient drying der Mesophyllmembranen auf die Transpiration wenden. BANGE schreibt noch 1953: „Eine Beeinflussung der Transpirationsregulation durch innere Welkung[1] wird für unwahrscheinlich gehalten."

[1] Gemeint ist das incipient drying der Mesophyllmembranen.

In vorliegender Arbeit wird das Problem der Transpirationsregulation unter Berücksichtigung des incipient drying erneut aufgegriffen und versucht, mit einer neueren Methode[1] Einblick in die Verhältnisse der Wasserdampfabgabe bei Laubblättern zu bekommen.

I. Allgemeine Erörterungen zur Transpirationsfrage

1. Die Komponenten der Gesamttranspiration

Die Gesamttranspiration eines Laubblattes setzt sich aus der cuticulären und der stomatären Transpiration zusammen. Bei Tag und bei genügender Wasserversorgung beträgt der Anteil der stomatären Transpiration nach RENNER (1910) je nach Pflanzenart 65—85%. STÅLFELT (1932) hatte bei der Birke in bewegter Luft 95% festgestellt und WALTER (1947) gibt für diese sogar 97% an. Somit darf wohl gesagt werden, daß der stomatären Transpiration gegenüber der cuticulären die größere Bedeutung zukommt, selbst wenn man berücksichtigt, daß die Stomata während der Dunkelheit häufig geschlossen sind.

Von welchen Faktoren wird nun die Wasserdampfabgabe bestimmt? Wie bei jedem verdunstenden System hängt auch bei der Transpiration der Laubblätter die Wasserdampfabgabe (V) von folgenden 3 Größen ab: 1. vom Gefälle (P) zwischen dem Dampfdruck der zu verdampfenden Flüssigkeit und dem der umgebenden Luft, 2. von der Größe (A) der verdunstenden Oberfläche und 3. vom Diffusionswiderstand (W), der die freie Fortbewegung der Wassermoleküle hemmt. In einer Gleichung ausgedrückt ist bei bestimmten Voraussetzungen (vgl. S. 550) bei einem Luftdruck von 760 mm Hg*

$$V = \frac{P \cdot A}{W}. \qquad (1)$$

Für das Blatt bedeutet nun P das Gefälle zwischen dem Dampfdruck der Zellflüssigkeit D_z und dem der Außenluft D_L. A gibt die Größe der Blattoberfläche an und W den gesamten Diffusionswiderstand. Bei der stomatären Transpiration stellt sich den verdampfenden Wassermolekülen neben dem Widerstand der Spaltöffnungen (W_s), dessen Größe von der Spaltenweite abhängig ist, noch der Widerstand der Mesophyllmembranen (W_m) entgegen. Da Diffusionswiderstände sich nicht

[1] ABOU RAYA (1950) führte ebenfalls Versuche mit der hier angewandten Methode durch, die mir erst kurz vor Abschluß der Arbeit bekannt wurden. Doch ist die Zielsetzung ABOU RAYAS grundsätzlich verschieden von derjenigen der folgenden Arbeit; ABOU RAYA untersuchte, in welchem Maße die stomataführende Epidermis die Geschwindigkeit der Wasserabgabe aus den Mesophyllzellen begrenzt. Objekt war *Sedum spectabilis*.

* Vgl. das DALTONsche Verdunstungsgesetz $V = K\,(F-f)\,(760/P) \cdot S$, K = Evapor.-Koeffiz., F = max. Dampfsp. d. Luft, f = gegenw. Dampfsp. d. Luft, $760/P$ = Proport. d. atmosph. Druckes, S = Oberflächengröße.

addieren, sondern multiplizieren (BREWIG 1933), gilt für $W = W_S \cdot W_m$. Setzt man die Beziehungen für W und P in die Gl. (1) ein, so gilt für die stomatäre Transpiration V_S

$$V_s = \frac{(D_z - D_L) \cdot A}{W_s \cdot W_m} \,. \tag{2}$$

Es ist eine bekannte Tatsache, daß bei freien Wasserflächen die Verdunstungsmenge der Verdunstungsfläche nicht proportional ist, da die austretenden Wassermoleküle sich in ihrer Bewegung gegenseitig hemmen; die Verdunstung ist vielmehr, wie schon STEFAN (1881) angibt, ungefähr dem Umfang der Verdunstungsfläche proportional. Nun wird die Verdunstung eines Systems um so eher der Verdunstungsfläche proportional sein, je besser die einzelnen Wassermoleküle wegdiffundieren können bzw. abgeführt werden. Dies ist entweder dadurch gewährleistet, daß die Verdunstung des Systems so gering ist, daß die Moleküle wegen ihrer geringen Zahl sich in ihrer Bewegung gegenseitig nicht hemmen, oder daß bei stärkerer Verdunstung eine starke Luftbewegung (Wind) die Moleküle abführt. HUBER (1928) und SEYBOLD (1929) konnten in Versuchen zeigen, daß bei kleinsten Poren (10 μ), wie sie die Stomata darstellen, bei einem Porenareal von 3% der Wind nicht verdunstungssteigernd wirkt, da der austretende Dampf schon durch Konvektion abgeführt wird. Demnach kann u. U. die stomatäre Transpiration der Laubblätter flächenproportional sein, und auch die Blattform kann in diesem Fall bedeutungslos sein. Dies alles trifft jedoch nicht zu für Blätter mit starker cuticulärer Transpiration.

Nicht ohne Einfluß auf die Transpiration der Blätter ist auch ihre Lage im Luftraum, da Wasserdampf leichter als Luft ist und nach oben steigt; darauf ist bei Transpirationsversuchen zu achten, wie auch SEYBOLD (1927) bemerkte.

Außerordentlich wichtig ist bei einer vergleichenden Betrachtung der Transpiration, daß bei allen Versuchen die gleiche Temperatur herrscht, da von ihr neben der Beeinflussung des Diffusionswiderstandes der Zellmembranen auch das Dampfdruckgefälle beeinflußt wird. Vor allem ist die Abkühlung durch die Verdunstungskälte bei verschieden hohen Temperaturen für die Pflanzen verschieden, wie GÄUMANN und JAAG (1936) zeigten.

2. Veränderung der die stomatäre Transpiration bestimmenden Faktoren

Die Größe der Verdunstungsfläche ist bei der Transpiration der Blätter am wenigsten veränderlich. Geringe Größenschwankungen der Blattoberfläche können bei welkenden Blättern durch nachlassenden Turgor hervorgerufen werden, größere durch Einrollen der Blattränder, wie das bei manchen Wüstengräsern u. a. zu beobachten ist. Abgesehen

von letzterem Falle spielt im Tageslauf die Oberflächenveränderung bei der Regulation der Transpiration jedoch keine große Rolle.

Wesentlich stärkere Schwankungen treten beim Dampfdruckgefälle und beim Diffusionswiderstand auf. Beide können sowohl von der Pflanze als auch von der Atmosphäre her verändert werden. Doch erfolgt eine wirksame Beeinflussung des ersteren mehr durch die Atmosphäre, des letzteren mehr durch die Pflanze, wobei die Pflanze den atmosphärischen Einflüssen wie Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Luftbewegung und Insolation — die hauptsächlich das Dampfdruckgefälle verkleinern bzw. vergrößern können — durch entsprechende Maßnahmen entgegenwirkt. Darunter versteht man gemeinhin die Regulierbarkeit der Transpiration. Die atmosphärischen Einflüsse, die zusammen die Evaporationskraft der Luft bedingen, sollen hier nicht erörtert werden. Vielmehr interessiert in unserem Zusammenhang, wieweit die *Pflanze* das Dampfdruckgefälle und die Diffusionswiderstände beeinflussen kann.

Die mögliche Regulation des Dampfdruckpotentials von seiten der Pflanze besteht in der Veränderung des osmotischen Wertes des Zellsaftes. Die Beeinflussung einer Verdunstungshemmung durch denselben hat Renner (1915) untersucht. Er stellt von vornherein gleich fest, daß „eine Veränderung der Transpiration bei Erhöhung des osmotischen Wertes des Zellsaftes kaum ins Gewicht fallen dürfte, da eine Erniedrigung des Dampfdruckes durch eine Erhöhung des osmotischen Wertes erst bei Turgorverlust auftreten kann". Aber selbst bei voller Wirksamkeit des osmotischen Wertes ist die Dampfdruckerniedrigung gering. Nach der von Seybold (1930) angegebenen Gleichung (nach Nernst, s. Seybold 1930)

$$p - p_1 = \frac{P \cdot M \cdot p}{1000 \cdot s \cdot R \cdot T}$$

in der p = Dampfdruck des Wassers, p_1 = Dampfdruck der Lösung, P = osmotischer Druck der Lösung in Atm., M = Molekulargew. des Wassers (18), s = spez. Gew. des Wassers und $R = 0{,}0821$ (Gaskonstante) bedeuten, ergibt sich für einen osmot. Wert von 7 Atm. bei 20° C eine Erniedrigung des Dampfdrucks von 17,5 auf 17,4 mm Hg, das sind 0,57%. Bei einer rel. Feuchtigkeit von 50% der Außenluft berechnete Renner für einen osmotischen Wert von 100 Atm. eine Verdunstungserniedrigung von nur 14%.

Eine andere Beeinflussung des Dampfdruckgefälles ist durch Abkühlung des Blattes infolge der Verdunstung gegeben. Das Ausmaß der Abkühlung hängt einmal von der Menge des transpirierten Wassers, zum anderen, wie Gäumann und Jaag (1936) zeigten, von der Temperatur der Außenluft ab, wobei bei untersuchten Blättern die Unterkühlung bei 30° C trotz stärkerer Transpiration geringer war als bei 20° C. Außer-

dem hängt die Unterkühlung bei sonst gleichen Bedingungen von der Art des Blattmaterials ab. Die Unterkühlung ist oft gar nicht so gering; bei *Quercus robur* z. B. betrug sie als Folge einer Transpiration von 10 mg je Stunde und dm^2 1,4° C, was eine Verminderung des Dampfdruckgefälles um 8,5% bedeutete.

Die Wirkung von Atmungswärme und Assimilationskälte kann unberücksichtigt gelassen werden, da beide sehr gering sind (HUBER 1935). Wie die eben beschriebene Unterkühlung ist auch die Erwärmung durch Insolation abhängig von der Art des Blattmaterials und ist individuell sehr verschieden (HUBER 1935). Starke Insolation bewirkt trotz Verdunstungskälte oft eine bedeutende Erwärmung über die Temperatur der umgebenden Luft, was eine Vergrößerung des Dampfdruckgefälles bedeutet. Sowohl die Abkühlung durch Transpiration als auch die Erwärmung durch Insolation sind zwar bei sonst gleichen Bedingungen je nach Pflanzenart verschieden, doch sind sie als solche von der Pflanze nicht regulierbar[1].

Von seiten der Pflanze ist also nur eine ganz geringe Regulation des Dampfdruckgefälles möglich mit entsprechend geringem Einfluß auf die Transpiration. Damit ist die Veränderung des Diffusionswiderstandes das wichtigste Regulationsmittel der Pflanze.

Unter Diffusion versteht man in der Physik den Ausgleich der Konzentrationsdifferenzen von Flüssigkeiten und Gasen auf Grund der statistisch ungerichteten Wärmebewegung der Moleküle. Ein Ausgleich kann bei Flüssigkeiten z. B. durch mehr oder weniger durchlässige Membranen, bei Gasen durch Porenplatten gehemmt werden. Solche Diffusionswiderstände treten bei der stomatären Transpiration für jedes Wassermolekül auf dem Weg von der Mesophyllzelle bis in die Außenluft zweimal auf. Den ersten bilden die Mesophyllmembranen, die auf Grund ihrer Struktur die Wassermoleküle beim Austritt in die Intercellularen hemmen, den zweiten bildet die stomatatführende Epidermis; diese hemmt den Ausgleich der Dampftension in den Intercellularen mit der in der Außenluft.

Die Beziehungen zwischen Transpirationsintensität und Spaltenweite sind in vielen Arbeiten, z. B. bei SEYBOLD (1930), hinreichend dargelegt worden (dort weitere Literatur). Es steht außer Zweifel, daß mit einer genügend starken Verengung der Spalten die Transpiration eingeschränkt wird. Durch diese Veränderungsmöglichkeit des Diffusionswiderstandes vermag die höhere Pflanze ihren Wasserhaushalt wirksam zu regulieren. Doch schließt dies eine Regulation durch die Mesophyllmembranen nicht aus, die bei der stomatären Transpiration das erste Hindernis auf dem Weg der Wassermoleküle darstellen. So ergibt sich für uns die Frage:

[1] Eine Ausnahme machen die Pflanzen, die bei starker Insolation ihre Blattstellung verändern.

3. Ist die Annahme einer Transpirationsregulation durch das Mesophyll berechtigt?

Über die Bedeutung der Mesophyllmembranen für die Transpiration schreibt schon WIESNER (1882), daß bei vollimbibierten Blättern die stomatäre Transpiration gesteigert wird. Aber erst 26 Jahre später kann LLOYD (1908) zeigen, daß bei Versuchen in der Arizonawüste die Wasserdampfabgabe nicht parallel zur Spaltenbewegung läuft. So steigt manchmal bei seinen Versuchen die Transpiration noch an, während die Stomata ihre maximale Weite schon erreicht haben; im Verlauf der Versuche schwankte die Transpiration, ohne daß die Spalten sich verändert haben. LLOYD schließt daher: "It appears, therefore, that stomatal regulation of transpiration does not occur, though, of course, conservation of the contained water follows on complete closure of the stomata." Einen weiteren Beweis für die Richtigkeit seiner Annahme sah LLOYD darin, daß nach seiner Berechnung die Diffusionskapazität der Stomata gar nicht ausgenützt wird. BROWN und ESCOMBE (1900) haben für *Helianthus annuus* berechnet, daß dort die Diffusionskapazität der Stomata um das Sechsfache größer ist, als die tatsächlich beobachtete Maximaldiffusion. Es war also damit schon klargelegt, daß eine Diffusionshemmung zusätzlich — oder auch allein — im Mesophyll erfolgen muß.

Diese Frage haben nun LIVINGSTON und BROWN (1912) näher untersucht. Auf LIVINGSTONS Arbeit von 1906 zurückgreifend, bei der er den Begriff der relativen Transpiration geprägt hatte, stellten die beiden Amerikaner fest, daß diese über Mittag eine Einschränkung bis zu 48,6% erfährt. Da die Einschränkung bereits morgens zwischen 10 Uhr und 13 Uhr eintrat, folgerten LIVINGSTON und BROWN, daß eine solche nicht auf den Einfluß der Stomata zurückgeführt werden kann. Sie untersuchten den Wassergehalt ihrer Versuchspflanzen zu verschiedenen Tageszeiten und fanden, daß dieser über Mittag am geringsten war. Sie stellten sich den Transpirationsabfall als Folge eines zunehmenden Diffusionswiderstandes der Mesophyllmembranen auf Grund einer zunehmenden Austrocknung derselben vor, bedingt durch verstärkte Transpiration, wie das eingangs schon besprochen wurde. Dieses incipient drying vergleichen sie mit dem Phänomen, das bei Evaporimetern auftritt, wenn die Wasserabgabe an die Luft größer ist, als die Wassernachfuhr zur Filterpapierscheibe. Diese trocknet dann am Rande aus, und die transpirierende Fläche wird kleiner.

Auch RENNER (1910) fand bei Versuchen u. a. bei *Gentiana lutea*, daß bei Wind und Insolation die Transpiration zurückging, obwohl die Spalten sich kaum verengten. Beim Studium der Diffusionsverhältnisse bei den Stomata kam RENNER zu dem Ergebnis, daß bei den oben angeführten Bedingungen die theoretisch errechneten Transpirationswerte gegenüber den praktischen, in Versuchen gefundenen zu hoch

waren, so daß RENNER schreibt: „Die regulierende Wirksamkeit der Spaltöffnungen wäre also unter solchen Bedingungen geringer anzuschlagen, als meine Formeln angeben, aber sie wäre bei keiner Öffnung gleich Null, wie es LLOYD annimmt."

KNIGHT (1917) fand bei Untersuchungen an *Helianthus tuberosus*, bei denen er Wasseraufnahme, Transpiration, Spaltenweite und Evaporation gleichzeitig gemessen hatte, daß die Transpirationsgröße mehr von den Schwankungen des Wassergehaltes der Pflanze abhängen kann als von der Öffnungsweite der Stomata.

Angesichts dieses Materials allein schon, das sich noch durch zahlreiche, hier wegen Raummangels nicht aufgeführte Arbeiten[1] vermehren ließe, kann die Frage nach der Bedeutung des Mesophylls bejaht werden; nämlich in dem Sinn, daß die Stomata die Transpiration *nicht allein* regulieren. In welchem Ausmaß sich die Regulation der Mesophyllmembranen auswirkt, geht aber aus der Literatur nicht hervor und muß erst noch untersucht werden. Die folgenden Kapitel werden sich also damit zu befassen haben.

II. Versuchsergebnisse

1. Versuche mit Blättern ohne Epidermis

a) Allgemeines. Da es außerordentlich schwer ist, die Spaltenweite am lebenden Blatt schnell und genau zu messen und deshalb Angaben über Spaltenbewegungen bei Transpirationsabläufen mit einem erheblichen Unsicherheitsfaktor belastet sind, soll bei den folgenden Versuchen der störende Einfluß der Spaltöffnungen durch Abziehen der Epidermis ausgeschaltet werden. RENNER (1910) stellte schon vor 45 Jahren fest, daß die Spaltenbewegungen keine sicheren Angaben über die einzelnen Transpirationsregulatoren zulassen und schrieb damals: „Der wichtigste Fortschritt in der Kenntnis der Transpirationserscheinungen hängt also an der Auffindung eines Objektes, dessen Stomata sich gleichförmig verhalten. Erst dann läßt sich die Entscheidung darüber treffen, ob bei Konstanz der Außenbedingungen die Transpirationsgröße einzig und allein eine Funktion der Spaltenweite ist."

Gegen das Abziehen der Epidermis kann eingewendet werden, daß bei dieser Behandlung der natürliche Bau der Blätter stark verändert wird und daß durch Verletzung der möglicherweise vorhandenen Innenkutinisierung ein Vergleich mit der Mesophylltranspiration eines unverletzten Blattes nicht ohne weiteres möglich ist (vgl. ABOU RAYA 1950). Daß die Verletzungen gering sind und die daraus entstehende Abweichung der Transpiration unbedeutend ist, kann aus dem Verlauf der Mesophylltranspiration, wie sie in Abb. 3 dargestellt ist, geschlossen

[1] SHREVE (1914), MAXIMOW (1917), KERL (1929) und GRADMANN (1932).

werden. Hätten die Verletzungen ein größeres Ausmaß, würde die Einschränkung durch die Mesophyllmembranen nicht gleich zu Beginn der Versuche so zur Wirkung kommen.

Durch das Abziehen der Epidermis fällt der bedeutsame Transpirationsschutz derselben weg, und die gemessenen Transpirationswerte werden unnatürlich hoch. Da aber die so ermittelten Werte nur untereinander verglichen werden und die Folgerung daraus nicht quantitativer, sondern qualitativer Art ist, spielen die unnatürlichen Verhältnisse keine Rolle. Eine Untersuchung der Regulation der Mesophyllmembranen unter natürlichen Verhältnissen muß dann angeschlossen werden.

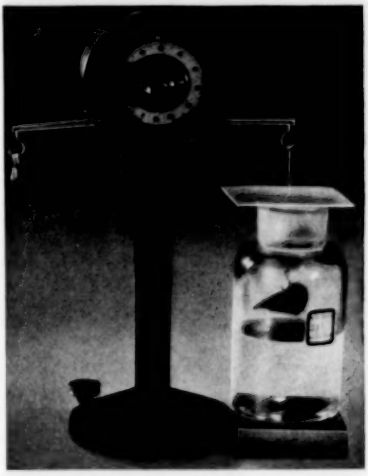

Abb. 1. Torsionswaage

b) Versuche mit *Sedum ellacombianum*. Als besonders geeignet erwiesen sich die Blätter von *Sedum ellacombianum*, bei denen sich vor allem die untere Epidermis sehr leicht entfernen ließ. Die obere Epidermis, die nicht so leicht abziehbar war, wurde am Blatt gelassen und durch Bestreichen mit Vaseline als Transpirationsfläche ausgeschaltet. So konnte eine beobachtete Transpirationseinschränkung nur noch vom Mesophyll herrühren. Die Präparation der Blätter beanspruchte eine Zeit von 1—2 Minuten, in der sie kaum Wasser verlieren konnten, so daß die Blätter zu Beginn der Versuche praktisch den gleichen Wassergehalt hatten wie zuvor an der Pflanze. Die Transpirationsintensität und eine Einschränkung derselben ließ sich nun durch Wägen der Objekte in bestimmten Zeitabständen genau feststellen. Die Wägungen wurden in einem nach Norden gelegenen Raum durchgeführt, dessen Temperatur während der Versuchsdurchführung nur ganz geringfügig schwankte (während eines Versuches maxim. um $\pm$ 0,5° C). Die Werte der relat. Dampfspannung im Raum, die während eines Versuches ebenfalls sehr konstant war, sind jeweils bei den Versuchsergebnissen angegeben. Als Meßinstrument für die Wasserdampfabgabe diente eine Analysenwaage mit einer Ablesegenauigkeit von 0,1 mg.

Für einen Teil der Transpirationsmessungen, welche bei verschieden hohen Dampfsättigungsdefiziten der Außenluft durchgeführt wurden, verwendete ich eine Balkentorsionswaage von Jung, Heidelberg, nach der Anordnung, wie sie in Abb. 1 zu sehen ist. Die Wägung der Blätter bei verschieden hoher Luftfeuchtigkeit ist im einzelnen so durchgeführt worden, daß die Blätter über Schwefelsäure-Wassergemischen verschiedener Zusammensetzung in verschlossenen Flaschen gewogen wurden. Die auf weithalsige Flaschen mit Vaseline aufgedichteten Plexiglasdeckel hatten in der Mitte ein Loch mit einem Durchmesser von 0,8 mm, durch das ein Perlonfaden ging, der die Verbindung zwischen Versuchsblatt und Waagebalken herstellte. Die Dampfspannung in der Flasche wurde durch die einmalige kurze, nur einige Sekunden dauernde Öffnung, wie sie bei der Versuchsanstellung notwendig war, kaum verändert, wie durch Prüfung der Evaporation einer wasser-

gesättigten Fließpapierscheibe, die an ein mit Wasser gefülltes Glasglöckchen (vgl. S. 563) aufgeklebt wurde, festgestellt werden konnte.

Zur Prüfung, wieweit die Austrocknungsvorgänge reversibel sind, wurden die Blätter nach verschieden großen Wasserverlusten in der feuchten Kammer über den Blattstiel mit Wasser versorgt und auf diese, dem natürlichen Wege der Wasserversorgung angepaßte Weise wieder turgescent gemacht. Die Anordnung der Versuchsanstellung ist in Abb. 2 ersichtlich. Den zur Überwindung der Reibungswiderstände in den Wasserleitungsbahnen nötigen Druck lieferte eine 30 bis 50 cm hohe Wassersäule.

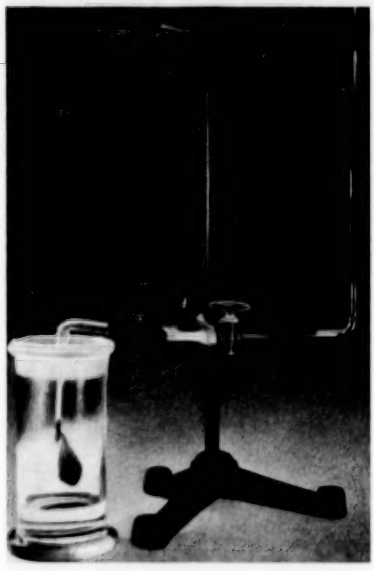

Abb. 2. Wasserversorgung des Blattes in feuchter Kammer

Mittels der eben beschriebenen Versuchsanstellung soll an epidermislosen Blättern von *Sedum ellacombianum* festgestellt werden, ob und in welchem Maß die Mesophyllmembranen in der Lage sind, die Verdunstung des im Blatt befindlichen Wassers einzuschränken. Jeder Abfall der Transpiration kann, da die Saugkraft der Luft konstant gehalten wurde, nur Folge einer erhöhten Verdunstungshemmung im Bereiche des Mesophylls sein. Um ein möglichst genaues Bild von dem Transpirationsablauf zu bekommen, wurden die Messungen sehr kurzfristig durchgeführt. Zu dem Vorteil der dichtfolgenden Werte müssen dann auch gewisse Nachteile mit in Kauf genommen werden, nämlich, daß die Werte nur sehr kleine Unterschiede aufweisen, die mit der Waage nicht immer festgestellt werden konnten. So konnte es vorkommen, daß einige Male gleiche Werte gemessen wurden, die in Wirklichkeit wahrscheinlich etwas verschieden waren, deren Differenzen aber innerhalb der Fehlergrenze lagen.

Von den zahlreichen Versuchen, die mit *Sedum ellacombianum* gemacht wurden, sind als Beispiel in Tabelle 1 die Daten der Versuche 1—6 wiedergegeben. Die meist 2stündigen Versuche, bei denen die Blätter etwa ein Viertel ihres Anfangswassergehaltes verloren, ihre Mesophylltranspiration aber auf fast die Hälfte einschränken konnten (vgl. Abb. 3), verliefen unter praktisch konstanten Verhältnissen. Die Werte für die Temperatur und die relative Luftfeuchtigkeit im Raum waren zu Beginn und am Schluß der Versuche die gleichen. Der osmotische Wert des Zellsafts der Blätter[1] erhöhte sich am Ende der Versuche

[1] Festgestellt mit der kryoskopischen Methode nach WALTER (1931).

um etwa 25—35% (von etwa 6,5 auf 9 Atm.). Dadurch wird der Dampfdruck der Flüssigkeit um ein viertel Prozent erniedrigt; eine Einschränkung der Transpirationsrate um 48% kann dadurch also nicht verursacht werden. Es ist hier die Wahl einer Pflanze mit großem Wasservorrat besonders vorteilhaft, weil der Verdacht, daß Wassermangel und Konzentrationserhöhung des Zellsafts die Einschränkung der Transpiration bedingen, gar nicht aufkommen kann. Die aus Versuch 1—6 errechneten Durchschnittswerte der Transpiration sind in Abb. 3 graphisch dargestellt.

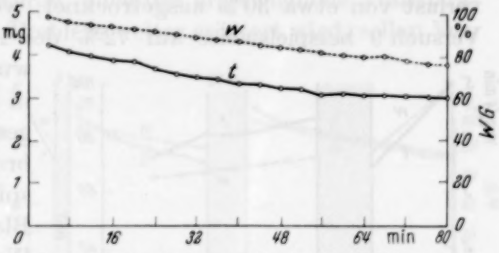

Abb. 3. Transpirationsverlauf bei Blättern ohne untere Epidermis von *Sedum ellacombianum*. Die durchgezogene Kurve (t) bezieht sich auf die linke Ordinate (Transpiration in mg pro 4 Min.). Die gestrichelte Kurve (w) gibt die Änderung des Gesamtwassergehaltes in % wieder (rechte Ordinate)

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich ist, schwankt das Verhältnis zwischen Trockengewicht und Wassergehalt bei den einzelnen Blättern ganz beträchtlich. Dies findet seine Erklärung darin, daß bei Versuch 1 und 2 die Blätter nachmittags um 16 Uhr bzw. 17 Uhr von der Pflanze entnommen wurden, während bei Versuch 3, 4 und 5 die Blätter morgens zwischen 8 Uhr und 9 Uhr abgeschnitten wurden. Vergleicht man dazu das Verhältnis von Anfangstranspiration zur Evaporation, so ist dies bei Versuch 1 und 2 kleiner als bei den am Morgen entnommenen Blättern.

Tabelle 1. *Versuche 1—6. Versuchsbedingungen bei den Transpirationsabläufen an Blättern von Sedum ellacombianum ohne Epidermis*

	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4	Versuch 5	Versuch 6
Frischgewicht in mg . . .	327	330	350	426	417	367
Trockengewicht in mg . .	27,0	26,2	23,2	27,1	28	27
Anfangswassergehalt in mg						
a) bezogen auf 1 mg Trockengew.	11,1	11,6	14,1	14,7	14,9	12,6
b) bezogen auf 1 cm² Blattfläche	51,0	52,0	65,0	75,0	68,0	63,5
Blattfläche in cm²	5,9	5,85	5,0	5,35	5,75	5,35
Rel. Feucht. der Luft in %	50	50	52	49	51	49
Lufttemperatur in °C . .	18	19,5	19,2	18,5	19	18,7
Anfangstransp. des Blattes in 4 Min. bezogen auf 1 cm² (in mg)	0,84	0,75	0,90	0,935	0,88	0,933
Evaporation einer komparablen Wasserfläche je 1 cm² in 4 Min. (in mg)	1,43	1,43	1,40	1,43	1,41	1,43
Verhältn. Transp.: Evapor.	0,588	0,535	0,642	0,655	0,624	0,655
Blattentnahme	16 Uhr	17 Uhr	8 Uhr	8 Uhr	8^{30} Uhr	11 Uhr

Da die Stomata ausgeschaltet sind, wird der Unterschied auf eine verschieden hohe Durchlässigkeit der Mesophyllmembranen zurückzuführen sein.

Es scheint zunächst so, daß tatsächlich, wie es auch LIVINGSTON und BROWN (1912) angenommen haben, der Wassergehalt maßgebend für die Mesophylltranspiration ist. Ob eine solche Beziehung immer besteht, sollte folgender Versuch klarstellen. Blätter wurden bis zu einem Wasserverlust von etwa 30% ausgetrocknet, wobei die Transpirationsrate in Versuch 9 beispielsweise auf 72% des Anfangswertes absank. Dann wurden die Blätter 21 Stunden in eine feuchte Kammer mit gesättigtem Wasserdampf gebracht. Eine anschließende Transpirationsmessung zeigte, daß ein Blatt jetzt bei annähernd gleichem Wassergehalt um etwa 14% stärker transpirierte als *vor* dem Einbringen in die feuchte Kammer. Auch dieser Versuch zeigte bei Wiederholung an anderen *Sedum*-blättern stets einen ganz ähnlichen Verlauf. Abb. 4 zeigt die graphische Darstellung des Versuchs 9.

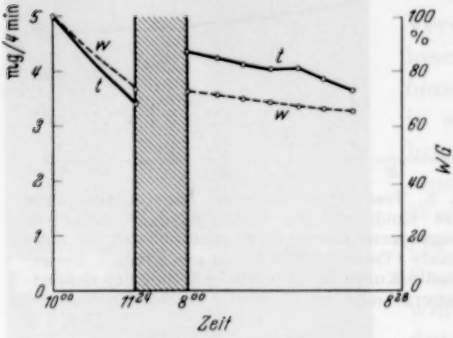

Abb. 4. Transpiration (*t*) und Wassergehalt (*w*) bei einem Blatt von *Sedum ellacombianum* ohne Epidermis. (Erklärung im Text)

Mittels dieser Versuchsanstellung kann also eindeutig gezeigt werden, daß die Transpirationshemmung *nicht allein* durch den Wassergehalt der Blätter bestimmt wird, sondern daß sie in hohem Maß von dem Feuchtigkeitsgehalt der die Mesophyllmembranen umgebenden Luft abhängt, denn nach einem längeren Aufenthalt der Blätter in dampfgesättigter Luft transpirierten diese viel stärker, obwohl ihr Wassergehalt nahezu unverändert blieb.

In weiteren Versuchen wurden die Blätter nach dem Austrocknen durch den Blattstiel wieder mit Wasser beschickt und turgescent gemacht. Eine daran anschließende Transpirationsmessung ergab die gleiche Transpirationsrate wie beim turgescenten Blatt nach der Abnahme von der Pflanze. Ebenso zeigte die nun wieder erfolgende Transpirationshemmung einen ähnlichen Verlauf wie die erste gleich nach der Blattentnahme. Nach einem zweiten Austrocknen durch Mesophylltranspiration wurden die Blätter abermals mit Wasser versorgt, damit anschließend ein drittes Mal der Transpirationsablauf untersucht werden konnte. Insgesamt wurde dieses Experiment also dreimal mit dem gleichen Blatt wiederholt, und jeder Transpirationsabfall hatte einen ähnlichen Verlauf. Von der fünfmal an verschiedenen Blättern durchgeführten Versuchsserie ist in Abb. 5 ein Versuch wiedergegeben.

Mit diesen Versuchsreihen ist deutlich gezeigt worden, daß sowohl die Saugkraft der Außenluft als auch der Wassergehalt der Blätter die Mesophylltranspiration beeinflussen. Die Transpirationsintensität war nach Aufenthalt der Blätter in dampfgesättigter Luft *ohne* Wasserzufuhr größer als zuvor, doch kleiner als die des vollturgescenten Blattes gleich nach der Abnahme von der Pflanze. *Mit* Wasserzufuhr *und* Einbringen in eine feuchte Kammer wurde, da hierdurch der ursprüngliche Wassergehalt wieder erreicht wurde, auch der ursprüngliche Transpirationswert erzielt. Bevor dieses Problem weiter erörtert wird, sollen Versuche mit anderen Pflanzen zeigen, ob dort ähnliche Verhältnisse vorliegen.

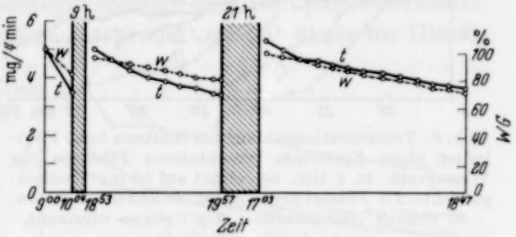

Abb. 5. Transpirationsablauf bei einem Blatt von *Sedum ellacomb.* ohne Epidermis nach Austrocknen und Wasserzufuhr im Vergleich mit dem Wassergehalt des Blattes. Bezeichnung wie in Abb. 4

c) Versuche mit anderen Pflanzen. Die Experimente an Blättern mit abgezogener Epidermis erschweren aus den vorher genannten Gründen eine Untersuchung bei vielerlei Pflanzen, so daß neben *Sedum ellacombianum* nur Blätter von *Saxifraga aizoon*, *Thlaspi perfoliatum*, *Cytisus nigricans* und Phyllodien von *Acacia marginata* verwendet werden konnten[1]. Doch zeigen diese wenigen Vertreter verschiedener Familien schon deutlich die Beziehungen zwischen Blattbau, Wassergehalt und Mesophyllregulation. Bei den Blättern und Phyllodien schwankt das Verhältnis zwischen Trockengewicht und Wassergehalt sehr stark, und die Wasserreserve, wie sie bei *Sedum* vorhanden ist, fehlt bei manchen Pflanzen gänzlich. Im Unterschied zu den Versuchen mit *Sedum ellacombianum* wurden hier die Epidermen von Ober- und Unterseite abgezogen; dementsprechend sind die Transpirationswerte natürlich höher. In Tabelle 2 sind die Versuchsbedingungen angegeben. Des besseren Vergleichs wegen ist hier *Sedum ellacombianum*, ebenfalls ohne Unter- und Oberepidermis, nochmals mit aufgeführt. Diese Versuche wurden bereits im Sommer 1952 durchgeführt. Beim Vergleich der Blatttrockengewichte bei Sedum im Sommer und bei dem im Winter fällt auf, daß das Trockengewicht der Blätter der Sommerpflanzen viel größer ist als das der Blätter der Winterpflanzen. Der Grund ist u. a.

[1] Die Auswahl der Objekte mit abziehbaren Epidermen könnte noch um die eine oder andere Pflanze vermehrt werden (verschiedene *Sedum*-Arten, *Digitalis lanata* u. a.); allerdings konnten schon bei den verwendeten Objekten außer bei *Sedum* Verletzungen im Mesophyll festgestellt werden, so daß die Durchführung größerer Versuchsserien mit ihnen unterblieb.

darin zu suchen, daß die Sommerblätter viel mehr Assimilationsstärke enthielten als die Winterblätter.

Einen Vergleich der Transpirationskurven der untersuchten Blätter zeigt Abb. 6. Auffallend ist, daß Blätter bzw. Phyllodien mit geringer Wasserreserve, wie die von *Cytisus* und *Acacia*, zu Beginn eine viel stärkere Mesophylltranspiration haben als z. B. die von *Saxifraga*, die fast den doppelten Wassergehalt der von *Cytisus* haben. Es scheint so, daß bei Pflanzen trockener Standorte schon die Mesophylltranspiration recht gut an die Verhältnisse angepaßt ist.

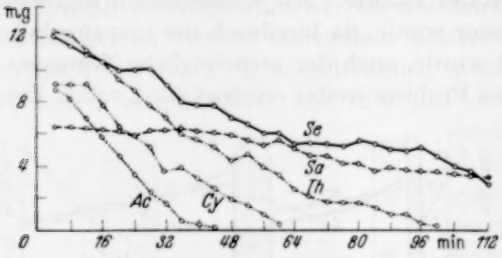

Abb. 6. Transpirationsablauf bei Blättern bzw. Phyllodien ohne Epidermis verschiedener Pflanzen (mg Wasserverl. in 4 Min. berechnet auf 50 mg Trockengewicht). *Th Thlaspi perfoliatum, Sa Saxifrage aizoon, Se Sedum ellacombianum, Cy Cytisus nigricans, Ac Acacia marginata*

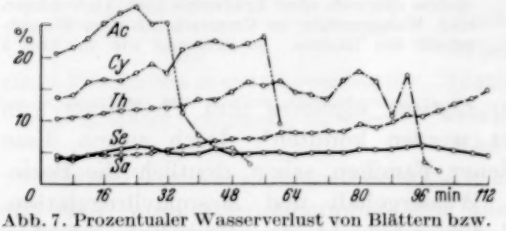

Abb. 7. Prozentualer Wasserverlust von Blättern bzw. Phyllodien ohne Epidermis verschiedener Pflanzen (bezogen auf den jeweiligen Wassergehalt). Bezeichnung wie in Abb. 6

In Abb. 7 sind die Werte des prozentualen Wasserverlustes (bezogen auf den jeweiligen Wassergehalt) graphisch dargestellt. Daraus ist ersichtlich, daß zu Succulenz neigende Blätter wie die von *Sedum* und *Saxifraga* mit ihrem Wasservorrat schon bei der Mesophylltranspiration viel besser haushalten als die Pflanzen mit dünneren Blättern wie *Acacia* und *Cytisus*, die ihr Blattwasser zunächst wenig eingeschränkt abgeben und erst dann infolge starken Wassermangels die Transpiration einschränken. Diese Einschränkung, die jeweils am Knick der Kurven in Abb. 7 beginnt, ist Folge der Austrocknung der peripheren

Tabelle 2. *Versuchsbedingungen bei Transpirationsmessungen an epidermislosen Blättern und Phyllodien verschiedener Pflanzen*

	Sedum ellacombianum	*Saxifraga aizoon*	*Thlaspi perfoliatum*	*Cytisus nigricans*	*Acacia marginata*
Frischgew. in mg.	310,0	239,5	204,5	94,5	81,5
Trockengew. in mg. . . .	52,0	58,0	58,5	38,5	43,0
Wassergehalt in mg bezog. auf 1 mg Trockengew. .	5,97	4,12	3,52	2,45	1,87
Anf.-Transp. in mg pro 4 Min., bez. auf 50 mg Trockengew.	12,2	6,5	12,5	9,1	8,7
Rel. Luftf. in %	43	43	42	44	44
Lufttemperatur ^{0}C . . .	19	18	19	18	18

Teile und ist nicht allein durch Entquellung der Membranen verursacht. Doch sind in diesem Fall die Blätter schon so geschädigt, daß sie sich nicht mehr erholen können. (Vgl. CALDWELL 1913.)

2. Versuche zur Frage des Protoplasteneinflusses

Schon vorher ist die Frage aufgetaucht, ob an der Regulation durch das Mesophyll allein die Zellwände beteiligt sind oder ob möglicherweise auch der lebende Protoplast einen Einfluß auf die Wasserdampfabgabe hat. Das Wasser im Protoplasma erleidet, wie in allen Kolloiden im Solzustand, durch die Quellungsvorgänge eine Dampfdruckerniedrigung, die derjenigen des Zellsaftes entspricht und mit dieser im Gleichgewicht steht (vgl. WALTER 1947). Diese Dampfdruckerniedrigung bewirkt ja die Saugkraft der Zellen. Nun wirkt dieser Saugkraft der Wanddruck entgegen nach der bekannten Beziehung (USPRUNG und BLUM 1916): Saugkraft gleich osmotischer Wert minus Wanddruck ($S = O - W$). Bei maximalem Wassergehalt der Zelle erreicht der Wanddruck die Größe des osmotischen Wertes, und damit wird die Saugkraft Null. Für unseren Fall bedeutet das, daß in diesem Zustand tatsächlich durch Plasma und Zellsaft keine Dampfdruckerniedrigung mehr besteht (vgl. RENNER 1915). Da in diesem Zustand die Membranen zunächst vollständig imbibiert sind, stellen sie keinen wesentlichen Transpirationswiderstand dar, wie aus den Transpirationswerten des vollturgescenten Blattes in Abb. 8 zu erkennen ist. Was erfolgt nun aber, wenn das Plasma abgetötet wird und dadurch die semipermeablen Eigenschaften aufgehoben werden? Wie Versuche zeigen (vgl. Abb. 8), fällt bei mit Äthyläther abgetöteten Blättern die Transpiration zunächst sehr stark, dann aber sehr langsam ab. Wieweit die Ionen des Zellsaftes auf die Membranen quellend oder entquellend wirken und ob der Ätherdampf möglicherweise vorhandene Suberinschichten geringfügig verändert, soll hier nicht untersucht werden. Wichtig für unsere Fragestellung ist vor allem das Ausmaß der Regulation. Aus den Werten in Abb. 8 geht hervor, daß diese bei abgetöteten Zellen relativ gering ist. Nach einiger Zeit der Transpiration übt die Saugkraft des Plasmas bei dem ursprünglich maximal turgescenten Blatt infolge Wasserverlust wieder einen Sog auf die Zellwand aus, während bei dem abgetöteten Blatt wohl die Konzentration des die Membranen imbibierenden Zellsaftes steigt und damit das Dampfdruckgefälle Zelle —

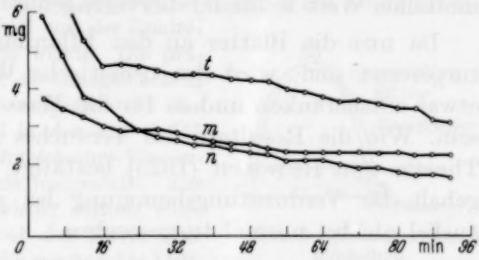

Abb. 8. Transpiration (mg in 4 Min.) eines normalen (n), eines abgetöteten (m) und eines vollturgescenten Blattes (t). Alle Blätter ohne untere Epidermis. Erklärung im Text

Luft verringert wird, jedoch ein Sog auf die Membranen wegfällt; denn die Ionen und Moleküle gelöster Stoffe des Zellsaftes, die beim lebenden Blatt vom Protoplasten von der Zellwand ferngehalten werden, treten hier ungehindert durch die Zellwand bis zur transpirierenden Oberfläche durch, wo sie sich anreichern dürften. Tritt nun wirklich nach einiger Zeit beim lebenden Blatt eine stärkere Transpirationshemmung auf als beim abgetöteten, so dürfte dies mit der Theorie von RUDOLPH (1925) in Einklang stehen. RUDOLPH schreibt über die Bedeutung des osmotischen Wertes, daß seine Verdunstungshemmung selbst bei hohen Werten gering sei, jedoch durch seinen Sog auf die Membranen werde diesen um so mehr Wasser entzogen, je höher er sei. So habe der osmotische Wert sekundär hervorragende Bedeutung.

Da nun die Blätter an den Pflanzen in der Regel nicht maximal turgescent sind, wird der osmotische Wert die Transpiration immer etwas einschränken und so für die Wasserabgabe doch von Bedeutung sein. Wie die Resultate des Versuches zeigen, wird die oben zitierte Theorie von RUDOLPH (1925) bestätigt, indem bei gleichem Wassergehalt die Verdunstungshemmung bei abgetöteten Blättern geringer ausfiel als bei normal turgescenten.

3. Die Suberinisierung der Mesophyllzellmembranen

Die Auskleidung der Intercellularen mit einer Cuticula ist schon seit langem vermutet und auch gefunden worden. ARZT (1933) wies bei sehr vielen Dikotylen eine solche nach und vermutet, daß alle Dikotylen-Pflanzen eine Innencuticula besitzen. Er fand diese Cutin-Suberinschichten durch Behandlung von Blattschnittpräparaten mit Chlorzinkjod. Weitere Untersuchungen führten HÄUSERMANN (1944) und SCOTT (1950) durch. Mit JKJ-H_2SO_4 konnte SCOTT bei allen an Intercellularen grenzenden Zellmembranen der höheren Pflanzen eine Suberinisierung zeigen.

In gleicher Weise wandte auch ich die bei SCOTT beschriebene Methode an und fand für *Sedum ellacombianum* deren Beobachtungen bestätigt. Wenn auch nicht immer in voller Deutlichkeit die Suberinlamelle sichtbar wurde, so ist das Vorhandensein einer solchen doch sehr wahrscheinlich.

Der Transpirationsablauf bei den Mesophyllzellen, der, wie im nächsten Abschnitt gezeigt werden kann, ganz ähnlichen Charakter hat wie der der cuticulären Transpiration, stimmt aufs beste überein mit den Beobachtungen über die Innencuticula. Es bestehen, abgesehen von der Dicke und dem Pektingehalt, sicherlich prinzipiell keine wesentlichen Unterschiede zwischen dem Aufbau der Mesophyllmembranen und dem der Epidermismembranen.

4. Modellversuche mit Membranen von Ficus elastica

Die Frage nach dem Einfluß des Feuchtigkeitsgehaltes der Außenluft und dem Einfluß des Wassergehaltes des transpirierenden Blattes auf die Wasserdampfabgabe soll in einem Modellversuch näher geprüft werden. Schon bei dem Versuch mit lebenden Blättern fiel auf, daß die Transpiration nicht nur vom Wasserdampfdefizit der Blätter abhing, sondern ebenfalls sehr stark von der austrocknenden Wirkung der die Blätter umgebenden Luft. Um diesen Einfluß trocknender Luft ohne Störung durch Plasma und Zellsaft untersuchen zu können, wurden Versuche mit präparierten Epidermen von *Ficus elastica* durchgeführt.

Nach der von SCHMUCKER (1930) angegebenen Methode wurde von Blättern von *Ficus elastica* die obere stomatafreie Epidermis in der Weise abpräpariert, indem bei Blattstücken das Mesophyll von der Epidermis mit einem Skalpell abgeschabt wurde. Die präparierte Epidermis wurde dann auf ein Glasglöckchen, (siehe Abb. 9), mit Alleskleber aufgedichtet, das Glöckchen mit Wasser gefüllt und in der auf S. 555 beschriebenen Weise über Schwefelsäure-Wassergemischen dessen Gewichtsabnahme festgestellt. Zur Sicherheit habe ich mich immer wieder mittels eines kleinen Evaporimeters überzeugt, ob der Raum über der Schwefelsäure auch tatsächlich die gewünschte Luftfeuchtigkeit besaß. Diese Versuche, die auf Grund einer verschieden hohen relativen Transpiration (Verhältnis von Transpiration zu Evaporation) Veränderungen des Transpirationswiderstandes der Epidermis aufzeigten, sind auch entsprechend mit epidermislosen Blättern von *Sedum ellacombianum* durchgeführt worden. Bei solchen Untersuchungen diente als Evaporimeter ein genau in gleicher Gestalt wie das zu untersuchende Blatt ausgeschnittenes Asbestplättchen, das so dick gewählt wurde, daß es die Menge Zellsaft, die die untersuchten Blätter enthielten, gerade noch aufnehmen konnte und dann vollständig getränkt war. Diese Versuchsanordnung hat methodisch gesehen auch noch den Vorteil, daß sie veranschaulicht, in welchem Maße die Transpirationseinschränkung durch die infolge Verdunstung höher werdende Konzentration des Zellsaftes sich auswirkt. Als physiologisch unveränderliches Transpirationssystem kam eine multiperforate Tantalsepte zur Verwendung, die wie die *Ficus*-Membran auf ein Glasglöckchen aufgedichtet wurde. Die Folie hatte eine Fläche von 4,9 cm², eine Dicke von 0,35 mm und eine Porendichte von 7 Poren je Quadratmillimeter. Die einzelnen schwach konisch gebohrten Poren hatten ihre geringste Weite an der Verdunstungsoberfläche mit einem Radius von 33 μ[1]. Das Porenareal betrug 2,5%.

Abb. 9. Transpirationsglöckchen

Da sich bei Vorversuchen herausstellte, daß die Transpiration ein und derselben Membran außerordentlich große Schwankungen aufweist, mußte dies ursächlich geklärt werden. In etwa 12 Std. fortlaufenden Messungen konnte ich erkennen, daß die Wasserdurchlässigkeit der Epidermismembranen noch in viel stärkerem Maß, als es bei den Mesophyllmembranen der Fall war, von dem Grad der Außenfeuchtigkeit abhängig ist. Dies ist auch durchaus verständlich, denn

[1] Es handelte sich um eine Spinndüse, die uns freundlicherweise von Herrn Prof. RATH, Reutlingen, geliehen wurde, wofür auch hier besonders gedankt sei.

die wahrscheinlich außenseitige Entquellung und die damit verbundene größere Undurchlässigkeit wirkt sich um so stärker aus, je dicker die Membran ist. Dies trifft ja für die Epidermiswände gegenüber den Mesophyllmembranen zu. Eine mikroskopische Untersuchung der äußeren Epidermismembranen ließ erkennen, daß bei solchen junger *Ficus*-Blätter die Cuticula eine Dicke von 3 μ hatte und die Celluloseschicht eine Dicke von 1 μ. Bei Membranen älterer Blätter war die Cuticula durchschnittlich 5 μ und die Zelluloseschicht 2 μ dick. Demgegenüber hatten die Mesophyllmembranen insgesamt nicht einmal die Dicke von 1 μ. Im folgenden Versuch wurde nun so vorgegangen, daß Membranen jüngerer und älterer Blätter auf die Glasglöckchen aufgeklebt und etwa 12 Stunden in einem dampfgesättigten Raum gelassen wurden. Anschließend ließ ich die Glöckchen in einem Luftraum mit 75% bzw. mit 10% relativer Dampfspannung transpirieren und stellte die Gewichtsverluste je Zeiteinheit fest. Während des Versuches wurde auf Temperaturkonstanz (19° C) geachtet, da die Permeabilität mit steigender Temperatur größer wird (VAN RYSSELBERGHE 1902 und DELF 1916).

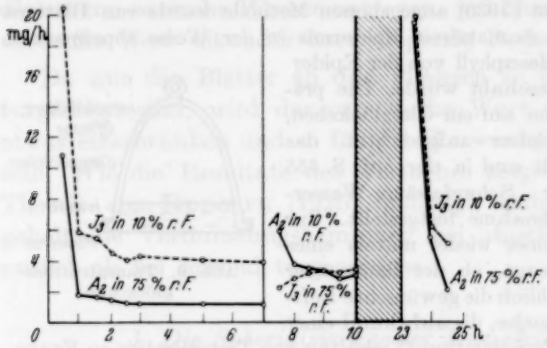

Abb. 10. Transpiration verschiedener Epidermen in 10 % und in 75 % rel. Feuchtigkeit. A_2 Epidermis eines alten, J_3 Epidermis eines jungen Blattes von *Ficus elastica*. Erklärung im Text

Von den zahlreichen Versuchen, die alle gleichsinnig verliefen, ist einer herausgegriffen und in Abb. 10 dargestellt. Nach 12stündigem Aufenthalt in dampfgesättigtem Raum ließ ich die Membran eines älteren Blattes (A_2) zuerst 7 Stunden in einem Raum mit 75% rel. Feuchtigkeit transpirieren und direkt anschließend ohne Unterbrechung drei Stunden in einem solchen mit 10% rel. Feuchtigkeit. Von da kam die Membran über Nacht wieder in die dampfgesättigte Kammer und am anderen Morgen (nach dreizehn Stunden) wieder in den Raum mit 75% r.F. Die Membran eines jüngeren Blattes (J_3) transpirierte in entsprechenden Zeiten zuerst bei 10% r.F., dann bei 75% r.F. und am anderen Morgen wieder bei 10% r.F. Die Temperatur wich während des 25stündigen Versuches nur um einige Zehntelgrad von 19° C ab.

Wie aus dem Verlauf der Kurven zu ersehen ist, erfolgt in der ersten halben Stunde eine sehr starke Transpirationseinschränkung, dann eine schwächere, bis allmählich die Verdunstung konstante Werte aufweist.

Nach dem Wechsel nach 7 Stunden fällt die Transpiration bei der Membran A_2, die aus feuchter Luft kommt, zunächst wieder ab, während bei Membran J_3, die aus trockener in feuchtere Luft kommt, die Transpiration zunächst ansteigt, bis nach 2 Stunden, wie auch bei Membran A_2, die Werte einigermaßen konstant werden. Im weiteren Verlauf des Versuches fällt bei beiden nach über 12stündigem Aufenthalt in dampfgesättigter Luft sowohl bei 75% r.F. als auch bei 10% r.F. die Transpiration wieder stark ab. Dieser Versuch ließ sich in dieser Weise mit dem gleichen Ergebnis beliebig oft wiederholen. Aus dem Verlauf der Kurven ist zu ersehen, daß die Wasserdurchlässigkeit der Membranen in hohem Maß von der Feuchtigkeit der Luft, in der sie

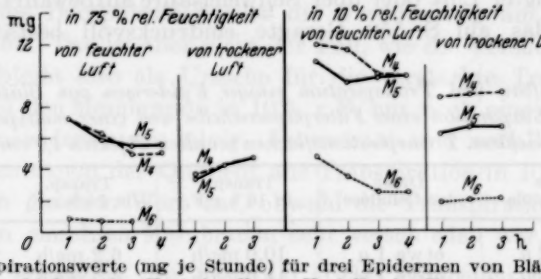

Abb. 11. Transpirationswerte (mg je Stunde) für drei Epidermen von Blättern von *Ficus elastica* nach verschiedenartiger Vorbehandlung. Kreisförmige Transpirationsfläche 4,9 cm², Temp. 19° C. M_4 und M_5 von jüngeren Blättern, M_6 von einem älteren. Erklärung im Text

sich längere Zeit befinden, abhängig ist. Da der Grad der Wasserdurchlässigkeit vor allem von dem Grad der Quellung der Membranen abhängig ist, kann gesagt werden, daß Luftfeuchtigkeit und Membranquellung zueinander in Beziehung stehen. Da alle Membranen bei dem oft wiederholten Versuch erst nach etwa 1 bis 2 Stunden konstante Transpirationswerte aufwiesen, und da vor allem bei Membranen, die von trockener Luft in feuchtere kamen, die Transpiration anfangs zunahm, kann geschlossen werden, daß sich ein bestimmter Quellungsgrad bei den Membranen erst nach einiger Zeit einspielt, der bei verschieden hoher Außenfeuchtigkeit verschieden ist. Ein weiterer Versuch wird dies noch besser zeigen.

In Abb. 11 sind Transpirationswerte von Versuchen wiedergegeben, bei denen verschiedene Membranen (M_4, M_5 und M_6) von *Ficus*-Blättern einmal vor der Transpirationsmessung 2 bis 3 Stunden in feuchter Luft (100% r.F.) das andere Mal 2 bis 3 Stunden in trockener Luft (über konz. Schwefelsäure) aufbewahrt wurden. Bei diesen Versuchen kamen immer dieselben Membranen zur Verwendung, wobei M_4 und M_5 von jüngeren Blättern stammten, M_6 dagegen von einem älteren. Es fällt auf, daß bei gleichen Bedingungen die Membranen der jüngeren Blätter stärker transpirierten als die des älteren Blattes. Das gleiche

fand auch BREWIG (1933), während KAMP (1930) und MITTMEYER (1931) bei ihren Versuchen feststellten, daß junge Blätter trotz dünnerer Cuticula eine geringere Transpiration aufwiesen als alte. (Vgl. auch SCHRATZ 1932.)

Bei den Kurven in Abb. 11 kommt nun klar zum Ausdruck, daß alle Membranen, die aus feuchter Luft kommen, einen Transpirationsabfall aufweisen, während im umgekehrten Fall ein mehr oder weniger deutlich erkennbarer Transpirationsanstieg beobachtet werden kann. Außerdem fällt auf, daß die Transpirationsrate aller Membranen nach einiger Zeit bei einer bestimmten Außenfeuchtigkeit eine ganz bestimmte Größe erreicht[1], gleichgültig ob die Membran vorher in dampfgesättigter Luft oder über Schwefelsäure aufbewahrt wurde. Damit kann das auf S. 558 Gesagte eindrucksvoll bestätigt werden.

Tabelle 3. *Aufbau und Transpiration einiger Epidermen von Blättern von Ficus elastica sowie Evaporation einer Filterpapierscheibe und einer multiperforaten Septe. Kreisförm. Transpirationsflächen bei allen Objekten 4,9 cm²*

	Dicke der Cuticula	Dicke der Cellulose	Transp. in 10 % r.F.	Transp. in 75 % r.F.	Verhältnis 10 % : 75 %
M_1	etwa 2 μ	etwa 1 μ	10,0 mg/h	6,2 mg/h	1,62:1
M_2	etwa 3 μ	etwa 1 μ	11,0 mg/h	6,5 mg/h	1,69:1
M_3	etwa 3 μ	etwa 1 μ	3,9 mg/h	2,2 mg/h	1,77:1
M_7	etwa 5 μ	etwa 2 μ	4,8 mg/h	2,5 mg/h	1,92:1
M_8	etwa 5 μ	etwa 3 μ	7,2 mg/h	4,3 mg/h	1,67:1
M_9	etwa 5 μ	etwa 3 μ	2,0 mg/h	1,2 mg/h	1,67:1
Filterpapier			65,0 mg/h	12,0 mg/h	5,40:1
Multiperforate Septe			40,0 mg/h	6,7 mg/h	5,90:1

Dieser Versuch ist nun noch weiter variiert und ausgewertet worden, und zwar in der Weise, daß statt der *Ficus*-Membranen einmal Filterpapier verwendet wurde, zum anderen die vorher schon erwähnte multiperforate Septe, die ebenso wie das Filterpapier die gleiche Transpirationsfläche wie die *Ficus*-Membranen hatte. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3 wiedergegeben. Was hier vor allem auffällt, ist die ungleich stärkere Transpirationseinschränkung bei den *Ficus*-Membranen bei 10% rel. Außenfeuchtigkeit gegenüber einer verhältnismäßig geringen bei 75% rel. Außenfeuchtigkeit. Während die Evaporation der Filterpapierscheibe bei 10% r.F. um mehr als das Fünffache größer ist, erreicht die Transpiration der *Ficus*-Membranen bei 10% r.F. nicht einmal das Doppelte von der bei 75% r.F.

Wie sind nun diese Erscheinungen zu deuten? Ist ein Vergleich von Transpiration und Evaporation in dieser Weise zulässig? Bei beiden

[1] Eine geringfügige, aber bei aus trockener Luft kommenden Membranen ständig auftretende Abweichung, ist wohl mit der Erscheinung der Hysterese (vgl. KOLLMANN 1951, S. 397) zu erklären.

Systemen, bei der Filterpapierscheibe sowie auch bei den Membranen, ist die Verdunstung von der Flächengröße bzw. -umfang, dem Dampfdruckgefälle und dem Diffusionswiderstand abhängig. Die Verdunstungsfläche sowie deren Umfang[1] ist bei allen Versuchsobjekten gleich groß. Das Dampfdruckgefälle war ursprünglich ebenfalls bei allen Objekten gleich, da bei allen destilliertes Wasser zur Verdunstung kam und die Raumtemperatur und -feuchtigkeit konstant gehalten wurden. Eine Veränderung desselben wird nun durch die Abkühlung infolge Verdunstungskälte auftreten. Diese Abkühlung ist aber um so größer, je stärker die Verdunstung ist, und diese ist bei der Filterpapierscheibe bei 10% rel. Luftfeuchtigkeit am größten. Dort also müßte durch Erniedrigung des Dampfdruckgefälles die Verdunstung am meisten gehemmt werden. Das ist aber nicht der Fall, wie die Versuchsergebnisse zeigen. So bleibt also als Ursache für die verstärkte Transpirationshemmung bei den Membranen in 10% r.F. nur noch eine Veränderung des Diffusionswiderstandes übrig. Interessant und auffallend ist, daß bei allen Membranen der Quotient aus Transpiration in 10% und 75% r.F. fast den gleichen Wert hat, obwohl die Transpirationseinschränkung bei den einzelnen Membranen sehr verschieden war.

Um dem seinerzeit von SEYBOLD (1934) erhobenen Einwand von vornherein zu begegnen, daß Transpirationswiderstände, die unter verschiedenen Verdunstungsbedingungen gemessen wurden, nicht miteinander vergleichbar seien, führte ich die Messungen in 10% und 75% r. F. auch mit einer multiperforaten Septe durch. Da nun diese, wie in Tabelle 3 zu sehen ist, in 10% und in 75% r.F. im gleichen Verhältnis Wasserdampf abgab wie die Filterpapierscheibe, dürfte dieser Einwand von SEYBOLD bei meinen Versuchen nicht berechtigt sein und deshalb kein Zweifel bestehen, daß die verminderte Wasserdampfabgabe in 10% r. F. durch einen größeren Diffusionswiderstand für die Wassermoleküle in der Membran bedingt ist.

Es werden alle Membranen und Stoffe, die in Wasser quellbar sind, je nach dem Quellungsgrad eine verschieden große Durchlässigkeit haben. Die Frage dabei ist nur, ob für die Membranen während des Transpirationsablaufes tatsächlich die Möglichkeit gegeben ist, zu entquellen. Bei Aufhören des Wassernachschubes besteht darüber kein Zweifel, aber wie ist es, wenn von dem Zellinnern Wasser nachgeliefert wird? Ist eine Entquellung der Membranen dann überhaupt möglich? Von vornherein kann gesagt werden, daß die Membranen nur dann und an der Stelle entquellen, wo die Wasserabgabe größer ist als die Wassernachfuhr. Dies tritt um so eher ein, je größer die Wasserabgabe ist; denn der Wassernachschub wird bei gleicher Temperatur und gleichem

[1] Es handelte sich immer um kreisförmige Flächen.

osmotischen Wert[1] bei unserem Modellversuch von innen her für eine bestimmte Stelle nicht erheblich geschwankt haben. Der Ort der größten Wasserabgabe und geringsten Nachfuhr bei einer Zellmembran liegt natürlich in der äußeren Membranzone auf der Verdampfungsseite, so daß die Entquellung dort beginnen muß. Je dicker nun die Membran und je größer ihr Diffusionswiderstand ist, um so eher wird eine solche Entquellung erfolgen können. Nach CLEMENTS (1937) können in den Zellwänden Hemicellulosen lagern, die besonders quellbar sind. Die nach heutigen Vorstellungen submikroskopisch fibrillär aufgebaute Zellwand könnte ohne solche zwischengelagerte Quellsubstanzen oder eine innere Cuticula das „incipient drying" unserer Vorstellung nicht so liefern. So betrachtet werden die Kurven in Abb. 11 verständlich.

Will man diese Überlegungen auf lebende Pflanzen übertragen, so sind dort die Verhältnisse im Prinzip gleich; auch dort wird der Quellungsgrad durch Wasserabfuhr und -nachschub bestimmt. Nur wird die Luft, die die Mesophyllmembranen umgibt, nicht so trocken sein wie im Modellversuch, so daß die Wasserabfuhr schwächer sein wird. Dafür wird beim lebenden Blatt im Gegensatz zum Modellversuch durch die Saugwirkung von Zellsaft-Protoplasma die Wasserzufuhr mehr oder weniger stark gebremst. Die Saugwirkung des lebenden Protoplasten ist — der osmotische Wert des Zellsafts von *Sedum ellacombianum* betrug bei Blättern in normal wassergesättigtem Zustand etwa 7 Atm. — im Vergleich zu der trockener Luft (bei 90% r.F. 140 Atm. und bei 10% r.F. 2890 Atm., vgl. WALTER 1947 S. 65) gering. Doch wie die Versuche auf S. 558 und 560 hinlänglich gezeigt haben, hat sie doch einen wirksamen Einfluß auf die Transpiration. Da in Luft meist keine Plasmolyse eintritt, wird die Saugkraft des Protoplasten noch größer als der osmotische Wert des Zellsafts der entsprechenden Zelle, da durch die Kohäsion des Wassers, die einen Wert von etwa 350 Atm. hat (RENNER 1915), die Wand mit nach innen gezogen wird, letztere aber das Bestreben hat, in ihre Ausgangslage zurückzugehen und dadurch als negativer Wanddruck zu dem osmotischen Wert des Zellsaftes addiert werden muß (vgl. WALTER 1947 S. 65).

Welch starken Einfluß sowohl die Feuchtigkeit der Außenluft als auch die Saugkraft des lebenden Protoplasten hat, soll ein weiterer Versuch zeigen. Bei Blättern von *Sedum ellacombianum* ohne untere Epidermis, ferner bei genau in Blattgröße und -form ausgeschnittenen Asbestplättchen, die mit Zellsaft getränkt waren, wurde die Transpirationsintensität in 10% r.F. und die in 75% r.F. gemessen. Es wurde streng darauf geachtet, daß jeweils die gleichen Versuchsbedingungen herrschten. Das Ergebnis dieser Versuchsreihen ist in Abbildung 12 wiedergegeben. Für die Zulässigkiet eines solchen Vergleiches zwischen lebendem Blatt und totem Verdunstungssystem gilt das auf

[1] Da destilliertes Wasser verwendet wurde, war dieser gleich Null.

S. 567 Gesagte. Ein Unterschied gegenüber der Evaporation der Filterpapierscheibe besteht bei dem Asbestplättchen nur insofern, als hier Zellsaft verdunstet, dessen Konzentration immer mehr zunimmt, wodurch das Dampfdruckgefälle gesenkt wird.

Die beiden Kurvenpaare in Abb. 12 geben ein sehr anschauliches Bild, wie Saugwirkung der Zelle und Saugwirkung der Außenluft Entquellungsgrad und Transpiration beeinflussen. So liefern diese Versuche den Beweis, daß die Verhältnisse, wie sie bei den *Ficus*-Epidermen im Modellversuch gezeigt werden konnten, bei den Mesophyllmembranen lebender Blätter genau so vorliegen. Auch hier ist die Einschränkung der Transpiration in 10% r.F. viel größer als in 75% r.F. Wie hiermit weiterhin bewiesen werden kann, genügt offenbar die geringe Dicke der Mesophyllmembranen, um die Regulationserscheinungen, die wir bei den viel dickeren Epidermismembranen von *Ficus* beobachten konnten, auch hier zur Geltung kommen zu lassen. Auch wird durch diese deutlich ausgeprägte Regulation die Auskleidung der Intercellularen mit einer cuticulären Schicht sowie das Vorhandensein von in die Zellwände eingelagerten Hemicellulosen sehr glaubhaft.

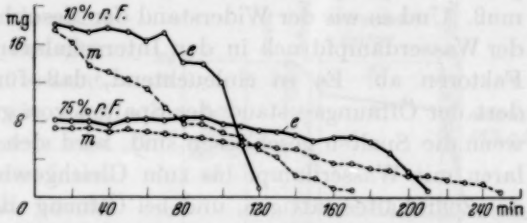

Abb. 12. Vergleich zwischen Mesophylltranspiration bei *Sedum*-Blättern (*m*) und Evaporation flächen- und gestaltsgleicher, mit Zellsaft getränkter Asbestplättchen (*e*) bei jeweils gleichen Außenbedingungen

Wie einerseits aus den beiden Kurvenpaaren in Abb. 12 zu ersehen ist, und andererseits aus der Kenntnis des Zustandekommens der Regulation zu verstehen ist, wird eine Transpirationseinschränkung um so wirkungsvoller, je geringer die Außenfeuchtigkeit ist. Bestünde die bisher weitverbreitete Meinung zu Recht, daß die Luft in den Intercellularen nahezu dampfgesättigt sei, so könnten diese Erscheinungen gar nicht oder nur ganz schwach zur Auswirkung kommen. Es bleibt deshalb noch zu untersuchen, welche Dampfdruckverhältnisse nun wirklich in den Intercellularen herrschen. Erst wenn es gelingt, zu zeigen, daß dort größere Wassersättigungsdefizite auftreten können, kann das „incipient drying" im Sinne eines Entquellungsmechanismus der die Intercellularen begrenzenden Zellmembranen mit Recht als Regulator bei der stomatären Transpiration angesprochen werden.

5. *Versuche zur Klärung der Mesophylltranspiration am lebenden Blatt unter natürlichen Bedingungen*

Haben die bisherigen Untersuchungen gezeigt, daß die Mesophyllmembranen dem Austritt des Wasserdampfes aus den Zellen einen ganz

erheblichen Widerstand entgegenzusetzen vermögen, der so groß sein kann, daß die freie Verdunstung bei *Sedum ellacombianum* bereits zu Beginn der Versuche um etwa 40% herabgesetzt wird (vgl. Tabelle 1), so soll jetzt noch geprüft werden, wie sich dieser Transpirationswiderstand auf die Wasserdampfspannung in den Intercellularen auswirkt, bzw. mit dieser im Wechselspiel steht. Er ist ja als Folge einer Entquellung der Membran anzusehen und hängt von Wasserzufuhr und -abgabe in denselben ab. Vor allem die Wasserabgabe wird von Faktoren beeinflußt, die sehr stark schwanken können. Es ergibt sich somit, daß der Transpirationswiderstand in den Mesophyllmembranen nicht gut vorausgesagt werden kann, sondern empirisch ermittelt werden muß. Und so wie der Widerstand der Mesophyllmembranen hängt auch der Wasserdampfdruck in den Intercellularen von stark schwankenden Faktoren ab. Es ist einleuchtend, daß für den Wasserdampfdruck dort der Öffnungszustand der Spalten von großer Bedeutung ist, denn wenn die Spalten geschlossen sind, wird sich die Luft in den Intercellularen mit Wasserdampf bis zum Gleichgewicht mit dem Dampfdruck des Zellinhaltes sättigen, und bei Öffnung der Spalten wird sich die Wasserdampfspannung in der Außenluft mit der in der Intercellularluft auszugleichen suchen. Da bei vollständig geöffneten Spalten der Diffusionswiderstand derselben sehr gering sein kann (vgl. SEYBOLD 1930), wird dieser Austausch sich relativ leicht vollziehen können. Somit ist für den Dampfsättigungszustand der Intercellularen ebenfalls derjenige der Außenluft von Bedeutung. Angenommen, der Nachschub an Wassermolekülen von den Membranen her sei konstant, so muß das Defizit an Wassermolekülen in den Intercellularen um so größer werden, je schneller die Moleküle durch die Stomata abwandern.

Es hängt also die Dampfdichte in den Intercellularen von zwei Größen ab: Von der Zahl der Moleküle, die pro Zeiteinheit von den Membranen in die Intercellularen einwandern (Q_m), und von der Zahl der Moleküle, die durch die Stomata abwandern (Q_s). Ist Q_m größer als Q_s, so wird die Konzentration (D_i) in den Intercellularen zunehmen und dementsprechend abnehmen, wenn Q_m kleiner ist als Q_s. Bei konstanter Größe der Widerstände der Membranen und der Stomata werden Q_m und Q_s sich bald auf den gleichen Wert einspielen, da die beiden Größen miteinander über D_i im Gleichgewicht stehen. Wird beispielsweise Q_s durch Vergrößern der Spalten größer, so nimmt dadurch zunächst D_i ab, was wiederum veranlaßt, daß nun infolge des größeren Gefälles zwischen Zellsaft und Intercellularen Q_m größer wird. Durch das Abnehmen von D_i jedoch wird das Gefälle zwischen Intercellularen und Außenluft kleiner, und Q_s wird dadurch auch wieder kleiner, bis schließlich $Q_s = Q_m$ wird. Natürlich ist D_i im Intercellularsystem nicht überall gleich, sondern nimmt von der Grenzfläche der Mesophyllmembranen

gegen die Stomata hin ab. D_i stellt also einen Begriff für viele Werte dar, dessen maximaler Wert ($D_i \cdot_{max}$) an der Grenzfläche der Mesophyllmembranen und dessen minimaler Wert ($D_i \cdot_{min}$) an der Innenseite der Spaltenapparate liegt. Im Falle einer vollständigen Sättigung der Membranen mit Wasser entspräche der Maximalwert von D_i einer r.F. von 100%. Bei gleichbleibendem Minimalwert wäre in diesem Falle das Gefälle in den Intercellularen am steilsten. Der Maximalwert von 100% r.F. herrscht bei unserem *Sedum* aber nicht, denn sonst hätte das Mesophyll den gleichen Verdunstungswert wie eine komparable Wasserfläche. Das ist aber, wie gezeigt werden konnte, nicht der Fall.

Hinsichtlich der Regulation der Mesophyll-Transpiration leuchtet nach dem auf S. 569 Gesagten sofort ein, daß diese im wesentlichen davon abhängt, wie hoch $D_i \cdot_{max}$ ist, denn dadurch wird die Größe des Gefälles in den Intercellularen bestimmt und ebenso natürlich das Gefälle von Zellsaft zu $D_i \cdot_{max}$. Ein Einblick in diese Verhältnisse wäre deshalb außerordentlich aufschlußreich. Eine direkte Klärung ist nicht möglich, weil dazu geeignete Meßgeräte fehlen. Doch soll mittels verschiedener Methoden versucht werden, wenigstens eine angenähert richtige Vorstellung über die Dampfdruckverhältnisse in den Intercellularen zu bekommen.

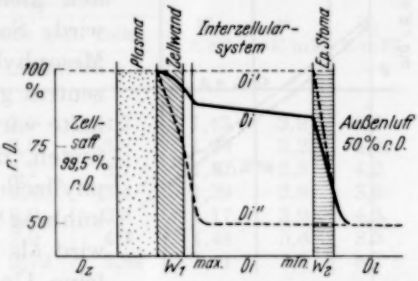

Abb. 13. Schema der Dampfdruckverhältnisse im Blatt. Erklärung im Text

In Abb. 13 sind die bei der stomatären Transpiration auftretenden Dampfdruckgefälle dargestellt, wie sie vermutlich bestehen werden. Aus diesem Schema gehen die Widerstandsverhältnisse klar hervor. Wäre der Widerstand der Zellmembranen W_1 gleich Null und die Intercellularluft dampfgesättigt bis an den Innenrand der Spalten, so müßte der Widerstand der Spalten W_2 das maximal mögliche Dampfdruckgefälle aufrechterhalten können, wie es auch vielfach angenommen wird. Dies widerspricht aber der Tatsache, daß die Diffusionskapazität offener Spalten bis zu 44% (bei *Sedum*) betragen kann[1].

Um die Dampfdruckverhältnisse in den Intercellularen zu klären und vor allem, um zu prüfen, ob die Annahme eines linearen Abfalles des Dampfdruckes von $D_i \cdot_{max}$ zu $D_i \cdot_{min}$ berechtigt ist, wurde folgender Modellversuch mit der multiperforaten Septe angestellt: Destilliertes Wasser wurde durch die Porenfläche, nämlich die schon erwähnte Spinndüse, in der Weise verdunstet, daß der Abstand zwischen Wasseroberfläche und Porenplatte verschieden groß gewählt wurde. Dabei

[1] Von anderer Seite werden noch höhere Werte angegeben.

stellten sich interessante Verhältnisse heraus (vgl. Abb. 14). Es zeigte sich, daß die Verdunstung des Wassers mit zunehmendem Abstand der Wasserfläche von der Porenfläche linear abnahm. Damit ist erwiesen, daß der Dampfdruck des Wassers im Modell von der Porenplatte zur Wasseroberfläche linear zunahm, da die Verdunstung bei sonst gleichen Bedingungen ja proportional zum Dampfdruckgefälle ist. Es ist wohl nicht falsch, anzunehmen, daß auch im Blatt der Dampfdruck von $D_i \cdot_{max}$ zu $D_i \cdot_{min}$ geradlinig abnimmt. Allerdings werden in dem verzweigten Intercellularsystem die Verhältnisse komplizierter sein, da $D_i \cdot_{max}$ nicht, wie im Modellversuch, überall den gleichen Abstand von $D_i \cdot_{min}$ haben wird. So werden auch die peripher gelegenen Mesophyllzellen stärker transpirieren, als die zentral gelegenen. Durch die Verdunstungskälte wird zwar ein gewisser Ausgleich stattfinden, da beiden peripher gelegenen Mesophyllzellen auf Grund der größeren Abkühlung[1] der Dampfdruck mehr herabgesetzt wird als bei den zentral gelegenen. Solche feine Unterschiede können aber mit der in dieser Arbeit angewandten Methode nicht festgestellt werden.

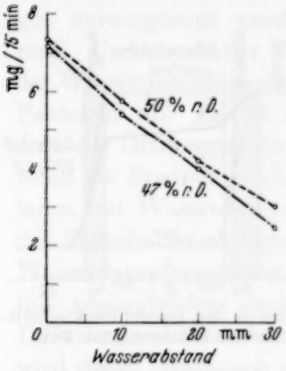

Abb. 14. Wasserverdampfung durch multiperforate Septe bei verschieden großem Abstand der Wasserfläche von der Septe (mg in 15 Min.) und verschieden großer Wasserdampfdichte (*r. D.*) der Außenluft

Wenn in den Intercellularen die Luft annähernd wasserdampfgesättigt wäre, müßte die Transpiration viel höhere Werte aufweisen als in den Versuchen festgestellt wurde. Je mehr nun die Spalten geschlossen werden, desto eher werden die Verhältnisse erreicht, die in Abb. 13 der mit D_i' bezeichneten Kurve entsprechen. Jedoch soll nach der Ansicht von RENNER (1910), HUBER (1923), FUKUDA (1935), BANGE (1953) u. a. auch bei offenen Spalten in den Intercellularen ein Dampfdruck gemäß D_i' herrschen. Nach der Ansicht, wie sie LLOYD (1908), SHREVE (1914), KNIGHT (1917) u. a. dagegen vertreten, sollen in den Intercellularen Dampfdruckverhältnisse gemäß D_i'' sein. Würden die Spalten kein Hindernis bedeuten, so müßte die Transpiration bei unserem *Sedum mit* und *ohne* Epidermis trotz gewisser versuchstechnischer Mängel sich weitgehend gleichen. Das ist aber nicht der Fall. So bleibt noch die dritte Möglichkeit, daß sowohl die Spalten als auch die Mesophyllmembranen die Verdunstung herabsetzen.

Folgender Versuch zur allgemeinen Orientierung verschafft uns Klarheit über die Größenordnung von W_1 und W_2. Die Transpirationsraten von *Sedum ellacombianum* wurden bei offenen Spalten zunächst

[1] Diese kann zwar durch Insolation mehr oder weniger kompensiert werden.

mit Epidermis, dann ohne untere Epidermis[1] festgestellt und dann bei gleichen Versuchsbedingungen die Evaporation einer 0,25 molaren Rohrzuckerlösung, die etwa den gleichen osmotischen Wert hatte wie der Zellsaft der Blätter zu Beginn des Versuchs, erfaßt, wobei die Rohrzuckerlösung aus einer genau in Blattgröße und -gestalt hergestellten Form aus Paraffin evaporierte. Die Ergebnisse der Transpirations- bzw. Evaporationsmessungen sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Tabelle 4. *Sedum ellacombianum Transpiration mit und ohne Epidermis und Evaporation einer 0,25 molaren Rohrzuckerlösung*

Blatt	Temp.	F.	Blattgröße	Transpiration je cm²			W_m	W_s	W_t
				mit E*	ohne E	Zells.	Z/oE	oE/mE	Z/mE
	°C	%	cm²	mg in 15 Minuten					
1	21	42	2,5	0,77	3,0	4,3	1,43	3,9	5,6
2	19	46	3,7	0,86	2,8	3,8	1,36	3,25	4,4
3	18	50	5,5	0,88	2,2	3,7	1,67	2,5	4,2
4	19	50	2,2	0,88	2,45	3,4	1,39	2,8	3,9
5	18	50	1,9	0,77	3,0	3,5	1,17	3,9	4,5
6	18	50	1,45	0,52	2,9	4,3	1,48	5,6	8,3
Mittel			2,88	0,75	2,72	3,84	1,41	3,6	5,1

F = rel. Feucht. d. Außenluft, W_m = Verh.-Zahl für Widerst. d. Mesophyllmembr., W_s = Verh.-Z. für Widerst. d. Stomata, W_t = Verh.-Z. für Gesamtwiderst. der stomatären Transp., * abzüglich der ermittelten Cuticulartranspiration (10%).

Aus diesen Werten ist wieder ersichtlich, wie groß die Transpirationshemmung[2] durch die Mesophyllmembranen sein kann. Das Blatt mit dem geringsten Spaltenwiderstand ist das Blatt 3. Dort ist die Verdunstung der Rohrzuckerlösung um das 4,2fache größer als die Transpiration des Blattes mit Epidermis. Der Anteil der Spalten bei dieser Erniedrigung der Wasserdampfabgabe auf ein Viertel beträgt 60%, der der Mesophyllmembranen 40%, wie aus der Tabelle 4 zu ersehen ist. Das heißt aber, daß bei Blatt 3 der Widerstand der Spalten nur um das Eineinhalbfache größer ist als der Widerstand der Mesophyllmembranen. Nach der Tabelle 4 haben die Verhältniszahlen für die Teilwiderstände bei Blatt 3 die folgenden Größen: $W_m = 1{,}67$, $W_s = 2{,}5$ und $W_t = 4{,}2$. Das Produkt von W_m und W_s ist nun W_t, da sich (vgl. Brewig 1932) Diffusionswiderstände multiplizieren. Bei diesen Orientierungsversuchen kommt deutlich zum Ausdruck, daß der Widerstand der Mesophyllmembranen bei der Gesamttranspiration eine beträchtliche

[1] Die obere Epidermis wurde vor den Transpirationsmessungen mit Vaseline bestrichen.

[2] Im Vergleich zu den Werten in Tabelle 1 ist hier mit Ausnahme von Blatt 3 die Einschränkung etwas geringer, was daran liegen wird, daß hier jüngere Blätter verwendet wurden.

Rolle spielt. Außerdem geht aus der Gleichung $W_t = W_m \cdot W_s$ (vgl. BREWIC) hervor, daß jede Veränderung eines Teilwiderstandes — also auch der der Mesophyllmembranen — sich in gleichem Maße auf den Gesamtwiderstand der stomatären Transpiration auswirkt.

Zwei andere Versuchsreihen können zur Klärung der Transpirationsverhältnisse weiterhin beitragen. Sind in den eben beschriebenen Versuchen die *Widerstände* W_1 und W_2 experimentell erfaßt worden, so sollen jetzt noch die Dampfdrucke in den Intercellularen, d. h. $D_{i \cdot \max}$ und $D_{i \cdot \min}$ ermittelt werden. $D_{i \cdot \min}$, d. h. der Dampfdruck in den Atemhöhlen unter den Stomata, kann experimentell folgendermaßen ermittelt werden. Wird bei Evaporationsversuchen mit verschiedenen osmotisch wirksamen Lösungen[1] bei gleicher Außendampfspannung und gleichem W_2[2] der Dampfdruck *der* Lösung festgestellt, die die gleiche Evaporationsrate aufweist wie die Transpirationsrate des zu untersuchenden Blattes, so entspricht dieser Dampfdruck dem der Luft in der Atemhöhle des entsprechenden Blattes. Es ist also notwendig, eine der stomataführenden Epidermis entsprechende perforierte Membran zu finden, die die Verdunstung in gleichem Maße hemmt wie die Stomata tragende Epidermis des zu untersuchenden Blattes. Leider war es nicht möglich ein Septum zu finden, das diesen Forderungen genau entsprach. Doch ließ sich die früher schon erwähnte Spinndüse verwenden, deren Poren die Verdunstung um 42% einschränkten (vgl. Tabelle 4 Blatt 3, dort 60% Einschr.). Durch Umrechnung der Werte des Spaltenwiderstandes und der Spinndüse auf die gleiche prozentuale Einschränkung sind dann Anhaltspunkte für die Dampfspannung in den Intercellularen gegeben. So wird bei einer Außenfeuchtigkeit von 50% die Verdunstung von 1 cm² Fläche destillierten Wassers bei einer Einschränkung durch das Septum von 3,25 mg je 15 Min. auf 1,8 mg/15 Min. gesenkt. Werden statt destilliertem Wasser Lösungen verschiedener Konzentration von Schwefelsäure genommen, deren Dampfdruck über der Lösung eine bestimmte relative Feuchtigkeit erzeugt, so beträgt die Verdunstung je cm² mit dem Septum bei 90% r.F. der Innenluft (18%ige Schwefelsäure) in 15 Min. 1,3 mg und bei 80% r. F. der Innenluft (26,3%ige Schwefelsäure) 1 mg. Bei Blättern von *Sedum ellacombianum* wurde unter denselben Außenbedingungen mit Epidermis eine Verdunstung je cm² von 0,97 mg in 15 Min. gemessen. Dieser Wert ergibt sich bei einer Einschränkung der Mesophylltranspiration um etwa 60%. Wäre die Einschränkung nur 42% wie bei der Septe, würde sich die stomatäre Transpiration auf etwa 1,3 mg erhöhen. Diesen Wert erhielten wir ja bei der Verdunstung durch die Septe bei einer relativen Innenfeuchtigkeit von 90%. Es darf somit angenommen

[1] Verwendet wurden Schwefelsäure-Wassergemische.

[2] Multiperforate Membran.

werden, daß die relative Feuchtigkeit der Intercellular-Luft des untersuchten Blattes einen ähnlichen Wert hatte. Da dieser zu Beginn des Versuches festgestellt wurde, das heißt zu einer Zeit, da noch kein incipient drying stattgefunden hatte, dürfte bei längerer Transpiration bei offenen Spalten dieser Wert noch beträchtlich tiefer werden[1]. Auf eventuelle Einwände, daß multiperforate Septen nicht mit den stomataführenden Epidermen verglichen werden dürfen, sei auf die Arbeiten von HUBER (1928) und SIERP-SEYBOLD (1929) hingewiesen. Alle drei Autoren kommen zu dem Ergebnis, daß bei perforierten Membranen mit einer Porengröße von 50 μ und kleiner die Verdunstungsverhältnisse denen der Stomata sehr ähnlich sind.

Tabelle 5. *Transpiration von Sedum-Blättern und Evaporation einer multiperforaten Septe bei verschiedenen Schwefelsäure-Wassergemischen als Verdunstungsflüssigkeit (berechnet auf 1 cm² * bei einer rel. Außenfeuchtigkeit von 50%, Temp. 19° C)*

	Ohne Epidermis	Mit Epidermis (60 % Einschr.)	Umgerechnet auf 42 % Einschr.
Sedum-Blatt mg in 15 Min. . .	2,2	0,9	1,3
	Aqua. dest.	18 %ige H_2SO_4	26,3 %ige H_2SO_4
Spinndüse mg in 15 Min. . . .	1,85	1,3	1,02

* Da bei Verdunstung aus kleinsten Poren (vgl. S. 550) dieselbe flächenproportional ist, ist Berechnung auf Einheitsfläche zulässig.

Eine weitere Möglichkeit, Anhaltspunkte über die relative Dampfspannung in den Intercellularen zu bekommen, ist die Untersuchung der Mesophylltranspiration bei verschieden großen Dampfdruckgefällen zwischen Zellsaft und der die Mesophyllmembranen umgebenden Luft. Da, wie auf S. 570 gezeigt wurde, Q_m bei konstanter Spaltengröße und konstanten Außenbedingungen nach einer gewissen Einspielzeit gleich Q_s ist, kann die Intensität der Mesophylltranspiration in folgenden Versuchen, wo Spaltengröße und Außenbedingungen während des Versuches annähernd konstant waren, mit der stomatären Transpiration verglichen werden. Da nun die Transpirationsintensität bei gleichem Diffusionswiderstand vom Dampfdruckgefälle abhängig ist, ist die Dampfspannung in den Intercellularen sowohl für die Mesophylltranspiration als auch für die stomatäre Transpiration bestimmend. Gestützt auf diese Überlegung muß für eine bestimmte relative Außenfeuchtigkeit D_L und eine bestimmte Spaltenweite W_2 die Dampfspannung der an die Mesophyllmembranen grenzenden Luft ermittelt werden können, indem

[1] Daß diese Methode nur eine ungefähre Vorstellung gibt, ist mir klar; doch bietet sie überhaupt die Möglichkeit, den Wasserdampfdruck in den Intercellularen zu ermitteln.

diejenige Dampfspannung festgestellt wird, bei der das Blatt ohne Epidermis gleich stark transpiriert wie mit Epidermis bei der Außenfeuchtigkeit D_L. Denn in diesem Fall, wo Q_m durch Herstellen eines bestimmten Dampfdruckgefälles zwischen Zelle und Intercellularen gleich Q_s gemacht wurde, muß die Dampfspannung, die beim Blatt mit Epidermis an die Mesophyllmembranen grenzt, der Dampfspannung der Luft, die beim Blatt ohne Epidermis die Mesophyllmembranen umgibt, gleich sein. Der gefundene Wert würde nach Abb. 14 $D_i \cdot_{\max}$ entsprechen.

Versuche, durch die sich $D_i \cdot_{\max}$ ermitteln läßt, habe ich in größerem Umfange durchgeführt. Im folgenden sind zwei Beispiele wiedergegeben, von denen im einen Fall für $D_i \cdot_{\max}$ eine relative Außenfeuchtigkeit (D_L) von 4% und im andern Fall für $D_L = 43\%$ ermittelt wurde. Die Ergebnisse dieser beiden Versuche sind in Tabelle 6 wiedergegeben. Versuchsanordnung war folgende:

Blätter von *Sedum ellacombianum* mit offenen Spalten wurden von der Pflanze abgeschnitten und dann die Oberseite mit Vaseline bestrichen. Nachdem dann eine viertel bis halbe Stunde die Transpirationsintensität bei konstanten Außenbedingungen gemessen wurde, wurde deren Messung nach Abziehen der unteren Epidermis wiederholt, mit dem Unterschied, daß jetzt das jeweilige Blatt in der bereits bekannten feuchten Kammer transpirierte, die gerade die r. F. hatte, bei der das epidermislose Blatt ebensoviel Wasserdampf abgab, wie vorher mit Epidermis abzüglich der Cuticulartranspiration bei entsprechend trockener Außenluft. Der Wasserverlust der Blätter ist bei diesen Versuchen gering (3—6%) und kann deshalb unberücksichtigt gelassen werden. Ebenso spielt der Abfall der Transpiration durch das incipient drying, das zunächst gering ist, keine große Rolle.

Danach ergibt sich für das Blatt A bei 43% rel. Außenfeuchtigkeit und einer Spaltenweite W_2 eine rel. Dampfspannung in den Interzellularen von etwa 85% ($D_i \cdot_{\max}$) und für 4% rel. Außenfeuchtigkeit ergibt sich für $D_i \cdot_{\max}$ sogar ein Wert von 65% r. F. Bei anderen Blättern

Tabelle 6. *Transpiration von Sedum-Blättern mit und ohne Epidermis zur Ermittlung der rel. Dampfspannung in den Intercellularen*

Zeit	Blatt A				Blatt B			
	mit Epidermis in 43 % r. F.		ohne Epidermis in 85 % r. F.		mit Epidermis in 4 % r. F.		ohne Epidermis in 65 % r. F.	
Min.	Gewicht mg	Transpiration mg in 10 Min.	Gewicht mg	Transpiration mg in 10 Min.	Gewicht mg	Transpiration mg in 10 Min.	Gewicht mg	Transpiration mg in 10 Min.
10	587,2		522,4		530,0		410,5	
20	584,9	2,3	520,3	2,1	524,0	6,0	405,0	5,5
30	582,4	2,5	518,3	2,0	518,3	5,7	400,0	5,0
40	580,0	2,4	516,2	2,1	512,5	5,8	394,7	5,3
Mittel:		2,4		2,06		5,8		5,3
Abz. 10% Cutic. tr.		2,16				5,22		

ermittelte ich bei 43% rel. Außenfeuchtigkeit für die rel. Dampfspannung der Intercellularluft Werte zwischen 85 und 90%. Diese Werte stimmen recht gut überein mit denen, die bisher auf anderem Wege gefunden wurden.

Da sich aus dem Quotienten von Dampfdruckgefälle und Transpirationsintensität der jeweilige relative Widerstand berechnen läßt, kann man auf diesem Wege ebenfalls die Widerstände von W_1 und W_2 berechnen. Für das Blatt A ergibt sich bei einer Mesophylltranspiration T_m und dem Dampfdruckgefälle $D_z - D_i$

$W_1 = \frac{D_z - D_i}{T_m}$ durch Einsetzen der entsprechenden Zahlenwerte

$W_1 = \frac{99{,}5^* - 85{,}0}{2{,}06} = 7{,}05$ und für W_2 entsprechend $W_2 = \frac{D_i - D_L}{T_s}$

$W_2 = \frac{85{,}0 - 43{,}0}{2{,}16} = 19{,}4$. W_2 ist in diesem Falle um das etwa 2,8fache größer als W_1. Bei der direkten Messung der Widerstände W_1 und W_2 ergaben sich für W_2 als n-faches von W_1 Werte für $n = 4{,}3$, 2,3 und 2,0 je nach Spaltenweite. Die oben ausgerechneten Werte, die auf ganz andere Weise erlangt wurden, passen gut zu den früher ermittelten. Diese gute Übereinstimmung mag für die Richtigkeit der Versuchsergebnisse sprechen.

Damit ist die auf S. 569 aufgestellte Forderung erfüllt und gezeigt, daß die Mesophyllregulation, die in der Arbeit zunächst unter ungewöhnlichen Verhältnissen demonstriert wurde, auch unter natürlichen im Blatt möglich ist und tatsächlich stattfindet. Wie stark sie im einzelnen Falle wirksam ist, hängt vor allem von der Spaltenweite ab, da deren Regulationswirkung um so stärker ausfällt, je tiefer der Dampfdruck in den Intercellularen ist. Daß die errechneten Werte im letzten Abschnitt wegen der Schwankungen, die beim lebenden Blatt vor allem durch verschiedene Spaltenweite auftreten, nur eine Annäherung sind, versteht sich von selbst. Da aber alle Ergebnisse der letzten drei Versuchsgruppen einander sehr ähnlich sind, obwohl sie auf ganz verschiedene Weise zustande gekommen sind, darf wohl angenommen werden, daß sie den tatsächlichen Verhältnissen sehr nahe kommen.

III. Diskussion

Im vorausgehenden ist der Transpirationsvorgang bei Blättern von *Sedum ellacombianum* und einigen anderen Pflanzen eingehend untersucht und analysiert worden. Durch Abziehen der Epidermis und das damit verbundene Ausschalten der Stomata konnte das viel umstrittene Problem des „incipient drying" der Mesophyllmembranen als

* 99,5 entspricht einem osmotischen Wert von 6,7 Atm.

sehr wirksamer Regulationsfaktor bei der Transpiration wesentlich zuverlässiger untersucht werden als in früheren Arbeiten, bei denen die Stomatabewegungen die Beobachtungen störten. Vor allem konnten auf diesem Wege auch Feststellungen quantitativer Art gemacht werden, die die Bedeutung des Mesophyllwiderstandes noch deutlicher hervortreten lassen. Die neuen, eigenen Beobachtungen, die einerseits mit Versuchsergebnissen anderer Autoren harmonieren, stehen andererseits mit manchen auf diesem Gebiet erschienenen Arbeiten nicht in Einklang. Es muß deshalb hier noch bei einer Gegenüberstellung der verschiedenen Ergebnisse das Für und Wider der verschiedenen Ansichten erörtert werden.

Auf S. 553 ist an Hand der Arbeiten von BROWN und ESCOMBE (1900), LIVINGSTON (1906), LLOYD (1908) u. a. gezeigt worden, daß der Widerstand bei der stomatären Transpiration nicht *allein* durch die Stomata gegeben ist, sondern daß auch noch andere Komponenten die Transpiration beeinflussen. Wenn BROWN und ESCOMBE für *Helianthus annuus* berechneten, daß die Diffusionskapazität der Spalten um das Sechsfache größer ist als die tatsächlich beobachtete Wasserdampfdiffusion, so ist damit erstens gesagt, daß die Luft innerhalb der Spalten nicht dampfgesättigt sein kann, zweitens, daß sehr wahrscheinlich die Wasserdampfabgabe aus der Zelle in die Intercellularen bereits durch die Membranen abgebremst wird. Entsprechende von RENNER (1910) bei *Gentiana lutea* gemachte Beobachtungen stehen ebenfalls im Widerspruch zu den Ansichten der Autoren, die in den Intercellularen eine dampfgesättigte Luft annehmen, wie HUBER (1923), BREWIG (1933), FUKUDA (1935), BANGE (1953) u. a.

Die in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse über den Transpirationswiderstand der Mesophyllmembranen und über die Dampfspannungsverhältnisse in den Intercellularen decken sich also recht gut mit denen der früheren Feststellungen. Dazu soll noch WALTER (1925) zitiert werden: „Auch bei der stomatären Transpiration muß das Wasser aus dem Zellinhalt durch die Membranen diffundieren, an deren Oberfläche erst die Dampfabgabe stattfindet. Dabei kann die Dampfabgabe an der Oberfläche einen größeren Wert erreichen als der Wasserersatz aus dem Zellinnern, und es findet eine teilweise Entquellung der Membranschichten, somit auch Herabsetzung der Transpiration statt; denn die Dampfspannung wird jetzt in den Intercellularen nicht mehr 100% betragen." GRADMANN (1932) sieht den Grund für ungenügenden Wassernachschub in den Mesophyllmembranen vor allem in ungenügender Wasserversorgung vom Boden her und findet seine Befunde in voller Übereinstimmung mit denen von LIVINGSTON und BROWN.

Den, das „incipient drying" bejahenden Arbeiten sind noch einige gegenüberzustellen, die es ablehnen. MAXIMOW (1929) spricht dem

„incipient drying" wenig Bedeutung zu. Seiner Meinung nach kommen die Unterschiede im Gang der Evaporation und Transpiration im wesentlichen dadurch zustande, daß die Verdunstungssysteme, die verschiedene Autoren benützten, auf die Verdunstungsfaktoren (z. B. Wind, Insolation) verschieden ansprechen. Doch sind nach GRADMANN bei den Versuchen von LIVINGSTON die Unterschiede zu groß, als daß diese sich allein aus der verschiedenen Ausbildung der verdunstenden Oberfläche ergeben können.

PFLEIDERER (1929) und STÅLFELT (1929) glauben, daß die an die Intercellularen grenzenden Membranen sich grundsätzlich anders verhalten als die stark kutinisierten Epidermiswände, und sprechen dem „incipient drying" eine Wirkung auf die stomatäre Transpiration ab. Damals war noch keine Innencuticula bekannt (vgl. S. 562).

FUKUDA (1935), der u. a. auf die Arbeiten von PFLEIDERER (1929) und STÅLFELT (1929) zurückgreift, glaubt, die Ursache für stomatäre Transpirationsschwankungen beruhe allein auf Veränderung der Spaltenweite. In seiner Arbeit, in der er sich mit der Hydratur der Pflanze befaßt, untersucht er die Transpiration der Pflanzen als Ganzes, ohne auf die einzelnen Komponenten der Transpiration einzugehen. Für ihn ist allein die Hydratur der Pflanze maßgebend für die Regulation der Wasserabgabe. Daß nicht sie allein die Transpiration beeinflußt, sondern auch die Saugkraft der Außenluft, ist in meiner Arbeit hinlänglich gezeigt worden.

Die Annahme von LLOYD (1908), daß die Spaltöffnungen, wenn sie sehr weit geöffnet sind, die Transpiration bei schwacher Verengung nicht zu beeinflussen vermögen[1], da die Dampfspannung in den Intercellularen zu gering sei, muß ebenfalls berichtigt werden. In jedem Fall, in dem die stomatäre Transpiration nicht durch starke cuticuläre Transpiration gestört wird, gilt für den Spaltenwiderstand, daß er der Öffnungsweite umgekehrt proportional ist (vgl. RENNER 1910), folglich auch für geringe Dampfspannungen im Intercellularsystem. Gemäß den Ausführungen auf S. 550 ist ja die Verdunstung um so eher der Fläche (also auch der Fläche der Stomata) proportional, je geringer die Verdampfung ist. Merkwürdigerweise nimmt auch RENNER (1910) an, daß eine geringere Regulationswirkung der Spalten bestehe, wenn bei Wind der maximale Dampfdruck von den Spalten weg ins Innere des Blattes verlagert wird. Bei ruhiger Luft hält er die stomataführende Epidermis für den begrenzenden Faktor.

Eine der RENNERschen gerade entgegengesetzte Ansicht vertritt BANGE (1953). Er nimmt vier verschiedene Diffusionswiderstände an: 1. Innere Atemhöhle und Hinterhof, 2. Zentralspalt und Vorhof,

[1] Vergl. auch JEFFREYS (1918).

3. Wasserdampfkuppe über den einzelnen Stomata und 4. an der Blattoberfläche anhaftende Lage unbewegter Luft. Danach hängen nur 1. und 2. Widerstand von der Öffnungsweite ab. Diese verlieren aber nach Bange ihren Einfluß in unbewegter Luft, 3. und 4. Widerstand dagegen fallen bei bewegter Luft weg, sind aber bei ruhiger Luft begrenzende Faktoren. Da bei kleinsten Poren die Verdunstung proportional dem Dampfdruckgefälle und der Porengröße ist, kann der von Bange angenommene Fall nur eintreten, wenn die Porenverdunstung durch starke cuticuläre Transpiration gestört wird. Das Vorhandensein von Dampfkuppen über den Stomata in „ruhiger Luft", von denen Bange spricht, ist sehr ungewiß, denn zur Entfernung derselben genügt bereits die Konvektion der Luft, wie Seybold (1930) in zahlreichen Versuchen gezeigt hat und dies damit als gesicherte Tatsache ansieht. Es muß also nach wie vor angenommen werden, daß eine Veränderung der Spaltenweite die stomatäre Transpiration beeinflußt. Bei der Gesamttranspiration kann in gewissen Sonderfällen (starke cuticuläre Transpiration) der Einfluß geringer sein.

Da zu der Zeit, als Renner (1910) die Beiträge zur Physik der Transpiration veröffentlichte, noch nichts bekannt war über das Vorhandensein einer Innencuticula bzw. stark entquellbarer Hemicellulosen, die in die Zellwände eingelagert sind (Clements 1937), ist es verständlich, daß dieser einen starken Dampfspannungsabfall in den Mesophyllmembranen nicht annehmen konnte. Nach den Ausführungen auf S. 562 ist ein solcher eher verständlich. Den besten Beweis dafür liefern die Versuche auf S. 557ff. Es konnte da ja gezeigt werden, daß bei *Sedum ellacombianum* die Mesophyllmembranen die freie Verdunstung im Mittel von sechs Versuchen auf das 0,6fache einschränken.

Weder die von den zitierten Amerikanern vertretene Ansicht, daß die Stomata für die Transpirationsregulierung bedeutungslos sind, wird zutreffen, noch die von Huber, Stålfelt, Fukuda, Bange u. a. vertretene Ansicht, daß die Mesophyllmembranen keinen Einfluß ausüben. Vielmehr regeln beide zusammen die stomatäre Transpiration, und zwar die Spalten rascher und empfindlicher, die Mesophyllmembranen durch Entquellungsvorgänge dagegen langsamer und stetiger.

Der von Livingston und Brown (1912) gezogene Vergleich des „incipient drying" der Mesophyllmembranen mit dem Austrocknen einer mit Wasser unzureichend versorgten Filterpapierscheibe ist nach den heutigen Anschauungen nicht mehr zutreffend. Zahlreiche Beobachtungen an Kolloiden haben übereinstimmend gezeigt, daß diese in gequollenem Zustand für Flüssigkeiten und für Gase permeabler sind als in entquollenem. So weisen Meyer und Mark (1950) darauf hin, daß Cellulosefolien in wassergesättigtem Zustand, in welchem sie bis zu 80%

Wasser aufnehmen können, für Wasser und Salze mit kleinerem Durchmesser der Moleküle als 40 Å und auch für Luft durchlässig sind, während trockene Folien nach TRILLAT-MATRICON (1935) für Luft undurchlässig sind. Dieses Verhalten wird mit der heutigen Erkenntnis über den Feinbau der Cellulose und der Anordnung der Moleküle in solchen Folien verständlich.

Für die Zellwand mit ihrem fibrillären Feinbau (vgl. MEYER und MARK 1905, FREY-WYSSLING und MÜHLETHALER 1951, KOLLMANN 1951, PRESTON 1952 u a.) und dessen Folgen für das Quellungsverhalten bzw. für die Hohlraumgrößen (ULLRICH 1953) ergibt sich heute folgendes Bild: Von den vorkommenden Cellulosen I und II kommt in den höheren Pflanzen nur die Cellulose I vor, die nach PRESTON Mikrofibrillen bildet mit Durchmessern von 50—300 Å. FREY-WYSSLING und MÜHLETHALER fanden nach Aufnahmen mit dem Elektronenmikroskop individualisierte Mikrofibrillen von einer gleichmäßigen Dicke von 200—300 Å. Auf Grund bestimmter chemischer Reaktionen ist das Vorhandensein von mikrofibrillären Hohlräumen, die für kolloide Partikel zugänglich sind, also größere Ausmaße haben, anzunehmen, ferner das von intermicellären Spalten, die nach FREY-WYSSLING die Größe von etwa 6 Å haben. Die die Mikrofibrillen zusammensetzenden Micellen bestimmten HENGSTENBERG und MARK[1] auf eine Dicke von 50 bis 60 Å und eine Länge von mindestens 600 Å. Bei der Sorption von Wasser in Holz gehen nach KOLLMANN drei Vorgänge ineinander über: Bis etwa 6% des aufnehmbaren Wassers werden unter Freiwerden von Wärme chemisch gebunden; bis etwa 15% werden adsorptiv aufgenommen, d. h. Wasserdampf wird in der Nähe der Oberfläche des festen Körpers verdichtet; der Rest folgt der Capillarkondensation. Durch die konkave Krümmung der Menisken wird der Dampfdruck über den Flüssigkeitssäulen in den Capillaren herabgesetzt, und zwar wird bei Capillaren mit einem Durchmesser von 80 Å der Dampfdruck auf 80% und bei einem Durchmesser von 30 Å auf 40% erniedrigt.

Da nun die Cellulosemembran durch ihre Fibrillenstruktur verschieden große capillare Hohlräume besitzt, kann der Verdunstungsvorgang aus ihnen so erklärt werden, daß zunächst das Wasser in den großen Capillaren verdunstet, dann folgt das in den etwas engeren, bis zuletzt das Wasser aus den Capillaren mit einem Durchmesser verdunstet, bei dem der Dampfdruck gerade noch etwas höher ist als der in der umgebenden Luft. Würden nun die Capillaren unverändert bleiben, müßte beispielsweise bei 80% relativer Außenfeuchtigkeit die Verdampfung aus einer Cellulosemembran gegenüber einer komparablen Wasserfläche eine größere Einschränkung erfahren als bei 40% relativer

[1] Zitiert bei MEYER und MARK (1950).

Außenfeuchtigkeit, da bei 80% r.F. der Anteil der Capillaren, die einen höheren Dampfdruck haben als die Außenluft und deshalb verdunsten können, geringer ist als bei 40% r.F. Das Gegenteil ist der Fall. Wie die Versuche gezeigt haben, ist die Einschränkung bei Mesophyllmembranen von *Sedum ellacombianum*, die hauptsächlich aus Cellulose[1] bestehen, in 10% r.F. größer als bei 75% r.F. (vgl. S. 566). Das kann nur erklärt werden, wenn eine Veränderung im Mikrofibrillennetz angenommen wird. Wenn bei der Verdampfung aus den Capillaren das Wasser nicht in dem Maße nachströmen kann, wie es verdampft, werden bei der Entleerung der Capillaren auf die Wände derselben durch die Adhäsion bzw. Kohäsion des Wassers (vgl. RENNER 1915) und bei größerer Annäherung vielleicht durch Nebenvalenzen Kräfte ausgeübt, die eine gegenseitige Annäherung der Mikrofibrillen bewirken. Je geringer nun die Außenfeuchtigkeit ist, um so eher werden sich die Capillaren entleeren und dadurch die Mikrofibrillen aneinanderrücken. Es wird für jede Außenfeuchtigkeit sich zwischen Capillarendampfdruck und Außendampfdruck in den Capillaren ein Gleichgewichtszustand einstellen und damit sich ein bestimmter Permeabilitätsgrad einspielen. Dieser wird schließlich eine gewisse Fixierung erfahren, da bei Berührung der Fibrillen sich Haftpunkte zwischen den Hydroxylgruppen benachbarter Oberflächenmoleküle bilden (GROTJAHN und HESS 1952). Diese Auffassung über die dichtere und lockere Packung der Fibrillen stimmt gut überein mit der Tatsache, daß in wassergesättigtem Zustand die Cellulose ja viel permeabler ist. Solche Vorgänge, wie sie hier für Cellulose geschildert sind, können auf echte Gele übertragen gedacht werden. Beobachtungen bei Agar-Agar, die damit übereinstimmen, hat schon ULEHLA (1926) gemacht.

Da auch die Cuticula in wassergesättigtem Zustand eine viel größere Permeabilität hat als in entquollenem Zustand, müssen auch hier ähnliche wie die oben geschilderten Vorgänge angenommen werden (vgl. die Modellversuche mit Membranen von *Ficus elastica* S. 563ff.). Beobachtungen von BREWIG (1931) an Membranen von *Hedere helix* und *Ficus elastica* stimmen mit meinen eigenen Versuchsergebnissen gut überein. MITTMEYER (1931) dagegen beobachtete bei Xerophyten, daß nicht das Sättigungsdefizit der Luft, sondern das Licht entscheidenden Einfluß auf die Transpiration hat. HÄRTEL und VUKOVITS (1952) deuten eine Veränderungen der Quellbarkeit mit einer Entladung der Membrankolloide oder über ein verändertes Ionenmilieu mit nachfolgender Be-

[1] Wieweit eine möglicherweise aufliegende Innencuticula bzw. die von CLEMENTS beobachteten, in die Zellwände eingelagerten, stark entquellbaren Hemicellulosen die hier vermuteten Vorgänge beeinflussen, kann nicht gesagt werden, da über die Beschaffenheit letzterer sehr wenig bekannt ist.

einflussung des Salzhaushaltes. In einer früheren Arbeit findet HÄRTEL (1943) bei höherer Quellbarkeit der Trockensubstanz der Pflanzen gleichzeitig eine höhere Cuticulartranspiration; gegen die Verbreitungsgrenze der untersuchten Pflanzen in höheren Gebirgslagen vermindert sich die Quellbarkeit der Trockensubstanz, was in Beziehung zu einer größeren UV-Bestrahlung gebracht werden kann. Beobachtungen von WIESNER (1882), HABERLANDT (1887), RUDOLPH (1925) und den eben aufgeführten Autoren stimmen alle mit den eigenen darin überein, daß bei entquollenen Membranen die Cuticulartranspiration viel schwächer ist. Wieweit Licht- bzw. UV-Lichtbestrahlung die Quellbarkeit innerer Membranen — nämlich der Wände des Intercellularsystems — beeinflussen, ist in dieser Arbeit nicht untersucht worden. Hingegen konnte einwandfrei gezeigt werden, daß sowohl stark kutinisierte Epidermen als auch schwächer kutinisierte bzw. suberinisierte Mesophyllmembranen durch den Feuchtigkeitsgehalt der Luft in ihrer Permeabilität beeinflußt werden (vgl. HÄRTEL 1951).

Zum Abschluß muß noch diskutiert werden, wieweit Lebenserscheinungen bei diesen Vorgängen eine Rolle spielen. ILJIN (1930) kritisiert LIVINGSTONs Vergleich mit dem Atmometer: „Dieser Vergleich ist nicht ganz richtig; würde LIVINGSTON das trocknende Blatt abgetötet haben, so wäre die Verdunstung sofort gestiegen." ILJIN mißt der Zellsaftkonzentration eine hohe Bedeutung zu. Er hält es nicht für zulässig, die Versuchsresultate am Lebenden auf physikalische Apparate zu übernehmen, wie LIVINGSTON und RENNER es getan haben. Ebenso wie ILJIN hält auch RUDOLPH (1925) den osmotischen Wert, der ja nur bei lebenden Geweben wirksam wird, für die Regulation von überragender Bedeutung. MACDOUGAL (1912) zeigte, daß beispielsweise aus dem Zellsaft von welkenden Sprossen bei *Echinocactus* doppelt soviel und mehr Wasser entzogen wird als aus dem eines turgescenten. URSPRUNG und BLUM (1920) ermittelten, daß bei einem welkenden Efeublatt der osmotische Wert einer Zelle von 25 auf 37 Atm. steigt. MOLISCH (1921) stellte fest, daß ein Blatt in welkendem Zustand schon in 5 Stunden seine gesamte Stärke verloren hat. Diese Arbeiten, die auf die Bedeutung des osmotischen Wertes lebender Gewebe bei der Transpiration hinweisen, werden durch die in dieser Arbeit durchgeführten Versuche bestätigt, bei denen abgetötete Blätter ihre Transpiration weniger einschränkten als lebende. Allerdings vermögen vollturgescente Blätter, wie schon RENNER (1915) voraussagt, die Transpiration noch weniger einzuschränken. Vollturgescente Blätter werden aber auch — ausreichende Beleuchtung vorausgesetzt — immer geöffnete Spalten haben, da der Öffnungszustand letzterer außer durch Licht auch durch den Turgor geregelt wird (vgl. STÅLFELT 1932). So schreibt auch PRINGS-

HEIM (1931): „Bei reichlicher Wasserversorgung können die besten Transpirationsschutzeinrichtungen nicht zur Geltung kommen." So kann über den Einfluß der lebenden Zelle gesagt werden, daß der osmotische Wert allein die Verdampfung nur unbedeutend einzuschränken imstande ist, wie diesbezügliche Versuche an toten Geweben beweisen. Bei welkenden lebenden Geweben, bei denen die Saugkraft voll zur Geltung kommt, scheint dagegen seine regulatorische Wirkung von nicht geringer Bedeutung zu sein, indem der Wassernachschub in die Membranen eingeschränkt wird und dadurch ein „incipient drying" der Membranen begünstigt wird.

Daß von Fall zu Fall die Bedeutung der verschiedenen Regulationsmechanismen verschieden sein wird, ist dabei von vornherein anzunehmen.

Kurze Zusammenfassung

Die Ergebnisse der in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1. Der Widerstand bei der stomatären Transpiration (W_t) setzt sich aus dem Widerstand der Stomata (W_s) und dem der Mesophyllmembranen (W_m) folgendermaßen zusammen: $W_t = W_s \cdot W_m$ (vgl. BREWIG 1933).

2. Der Widerstand der Mesophyllmembranen ist sowohl abhängig vom Wassersättigungszustand der lebenden Mesophyllzellen als auch von der austrocknenden Wirkung der die Membranen umgebenden Luft.

3. Bei geringer Luftfeuchtigkeit ist die Einschränkung der Transpiration durch die Mesophyllmembranen im Vergleich zur freien Verdunstung größer als bei hoher Luftfeuchtigkeit.

4. Die Luft in den Intercellularen ist bei geöffneten Spalten nicht, wie bisher angenommen wurde, annähernd dampfgesättigt, sondern weist größere Wasserdampfdefizite auf. Deren Ausmaß hängt in erster Linie von der Feuchtigkeit der Außenluft und dem Öffnungszustand der Stomata ab.

5. Die Bedeutung des Transpirationswiderstandes der Mesophyllmembranen als Regulator für die stomatäre Transpiration kann darin gesehen werden, daß bei offenen Spalten die stomatäre Transpiration zu einem guten Teil (bei *Sedum ellacombianum* bis zu 40%) von den Mesophyllmembranen eingeschränkt wird. Da die Wasser-Permeabilität der Mesophyllmembranen mit Zunahme der Trockenheit der Luft abnimmt, stellen diese einen wirksamen Regulator bei der pflanzlichen Transpiration dar. Hierbei ist das „incipient drying" LIVINGSTONs verwirklicht.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. H. ULLRICH, auf dessen Anregung hin vorstehende Untersuchungen ausgeführt wurden, an dieser Stelle

für seine wertvollen Ratschläge meinen herzlichsten Dank auszusprechen, ebenso für sein großes Entgegenkommen, mir nach seinem Weggang von Stuttgart, die Einrichtungen des Instituts für landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn zur Verfügung zu stellen. Ferner schulde ich Herrn Prof. Dr. A. Arnold für wertvolle Anregungen großen Dank.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft gebührt besonderer Dank dafür, daß ihr gehörende Apparaturen mir zur Verfügung standen.

Literatur

Abou Raya, M. A.: The rate of water-loss from stripped leaves. J. exper. Bot. **1**, 322—328 (1950). — Arzt, Th.: Untersuchungen über das Vorkommen einer Kutikula in den Blättern dikotyler Pflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **51**, 470—500 (1933). — Bange, G. G. J.: On the quantitative explanation of stomatal transpiration. Acta bot. neerl. **2**, 255—297 (1953). — Benecke, W., u. L. Jost: Pflanzenphysiologie, Bd. I. Jena 1924. — Brewig, A.: Ein Beitrag zur Analyse des Transpirationswiderstandes. Planta (Berl.) **20**, 734—791 (1933). — Briggs, L. J., u. H. L. Shantz: The wilting coefficient and its indirect determination. Zusammenfass. Flora (Jena) **105**, 224—240 (1913). — Brown, H. T., and F. Escombe: Static diffusion of gases and liquids in relation to the assimilation of carbon and translocation in plants. Philosophic. Trans. Roy. Soc. Lond. Ser. B **93**, 223 (1900). — Caldwell, J. S.: The relation of environmental conditions to the phenomen of permanent wilting in plants. Phys. Res. **1**, 1 (1913). — Clements, F. E.: Studies on drought resistance of the soy-bean. Res. stud. State Coll. Washington **5**, (1), 1—16 (1937). — Darwin, F., u. D. Pertz: On an new method of estimating the aperture of stomata. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **84**, 136—154 (1911). — Delf, M.: Studies of protoplasmatic permeability by measurement of rate of shrinkage of turgid tissues. Ann. of Bot. **30**, 283—310 (1916). — Frey-Wyssling, A.: Der Feinbau der Zellwände. Naturwiss. **28**, 385—394 (1940). Submicroscopic Morphology of protoplasma. Amsterdam 1953. — Frey-Wyssling, A., u. K. Mühlethaler: The fine structur of cellulose. Fortschr. Chem. organ. Naturstoffe **8**, 1—27 (1951). — Füsser, K.: Die Transpiration und die Transpirationswiderstände verschiedener Pflanzentypen. Planta (Berl.) **19**, 485—533 (1933). — Fukuda, Y.: Über die Hydratur der Pflanzen. Pflanzenforsch. **19**, 1—79 (1935). — Gäumann, E., u. O. Jaag: Untersuchungen über die pflanzliche Transpiration. Ber. schweiz. bot. Ges. **46**, 411—518 (1936). — Gates, F. C.: Xerofotic movements in leaves. Bot. Gaz. **61**, 399 (1916). — Geurten, I.: Untersuchungen über den Gaswechsel von Baumrinden. Forstwiss. Zbl. **69**, 704—743 (1950). — Gradmann, H.: Untersuchungen über die Abhängigkeit der Transpiration und des Welkens von den Wasserverhältnissen des Bodens. Jb. wiss. Bot. **76**, 558—663 (1932). — Grotjahn, H., u. K. Hess: Beeinflussung der inneren Oberfläche von Zellulosepräparaten. Kolloid-Z. **129**, 128 (1952). — Haberlandt, G.: Das Austrocknen abgeschnittener und benetzter, sowie abgeschnittener und nicht benetzter grüner Blätter und Pflanzenteile. Wiss. Unters. Geb. Pflanzenbau. (Wien) **2**, (1887). — Härtel, H.: Über die Quellbarkeit pflanzlicher Membranen. Phyton **3**, 69 (1951). — Härtel, O.: Quellungsstudien an Pflanzen verschiedener Höhenstufen. Protoplasma **38**, 350 (1943). — Härtel, O., u. G. Vukovits: Kutikulartranspiration und Hygroskopizität einiger Pflanzen nach UV-Bestrahlung. Ber. dtsch. bot. Ges. **65**, 383—386 (1952). — Häusermann, E.: Ber. schweiz. bot. Ges. **54**, 451 (1944). Zit. bei B. Huber, Wasserumsatz und Stoffbewegungen. Fortschr. Bot. **12**, 185—215 (1949). — Hess, K., W. Wergin u. H. Kiessig:

Zur Frage des Aufbaues der Primärsubstanz der Baumwollhaare. Planta (Berl.) **33**, 151—160 (1942). — HUBER, B.: Transpiration in verschiedener Stammhöhe. Z. Bot. **9**, 465—501 (1923). — Zur Physik der Spaltöffnungstranspiration. Ber. dtsch. bot. Ges. **46**, 610—620 (1928). — Der Wärmehaushalt der Pflanzen. Naturwiss. u. Landw. **17**, (1935). — ILJIN, W. S.: Der Einfluß des Wassermangels auf die Kohlensäureassimilation durch die Pflanze. Flora (Jena) **116**, 360—378 (1923). Die Ursache der Resistenz von Pflanzenzellen gegen Austrocknen. Protoplasma **10**, 379—414 (1930). — JEFFREYS, H.: Some problems of evaporation. Phil. Mag., 6. Ser. **35**, 270—280 (1918). — KAMP, H.: Untersuchungen über Kutikularbau und kutikuläre Transpiration von Blättern. Jb. wiss. Bot. **72**, 403—465 (1930). — KERL, H. W.: Beitrag zur Kenntnis der Spaltöffnungsbewegung. Planta (Berl.) **9**, 407—463 (1929). — KNIGHT, R. C.: The interrelation of stomatal aperture, leafwater content and transpiration. Ann. of Bot. **31**, 221—240 (1917). — KOLLMANN, F.: Technologie des Holzes und der Holzwerkstoffe, Bd. I. Berlin 1951. — LIVINGSTON, B. E.: The relation of desert plants to soil moisture and to evaporation. Carnegie Instn. Wash. Publ. **50** (1906). — LIVINGSTON, B. E., u. W. H. BROWN: Relation of the daily march of transpiration to variations in the water-content of foliage leaves. Bot. Gaz. **53**, 309—330 (1912). — LLOYD, F. E.: The physiology of stomata. Carnegie Instn. Wash. Publ. **82**, 1—142 (1908). — MACDOUGAL, D. T.: The water-balance of desert plants. Ann. of Bot. **26**, 71 (1912). — MAXIMOW, N. A.: The Plant in Relation to Water. London 1929. — MEYER, K. H., u. H. MARK: Makromolekulare Chemie. Leipzig 1950. — MITTMEYER, G.: Studien über die Abhängigkeit der Transpiration verschiedener Blattypen vom Licht und vom Sättigungsdefizit. Jb. wiss. Bot. **74**, 364—428 (1931). — MOLISCH, H.: Über den Einfluß der Transpiration auf das Verschwinden der Stärke in den Blättern. Ber. dtsch. bot. Ges. **39**, 339—347 (1921). — PFLEIDERER, H.: Kritische Untersuchungen zur Methodik der Transpirationsbestimmungen an abgeschnittenen Sprossen. Z. Bot. **26**, 305—327 (1933). — PISEK, A., u. E. BERGER: Kutikuläre Transpiration und Trockenresistenz isolierter Blätter und Sprosse. Planta (Berl.) **28**, 124—155 (1938). — PRESTON, R. D.: The Molecular Architecture of Plant Cell Walls. London 1952. — PRINGSHEIM, E. G.: Die Bedeutung der Zellwand für den Wasserhaushalt der Pflanzen. Naturwiss. **19**, 697—702 (1931). — RENNER, O.: Beiträge zur Physik der Transpiration. Flora (Jena) **100**, 451—547 (1910). — Theoretisches und Experimentelles zur Kohäsionstheorie der Wasserbewegung in der Pflanze. Jb. wiss. Bot. **56**, 617—667 (1915). — RUDOLPH, K.: Epidermis und epidermale Transpiration. Bot. Arch. **9**, 49—94 (1925). — RYSSELBERGHE, FR. VAN: Influence de la température sur la perméabilité du protoplasme vivant pour l'eau et les substances dissoutes. Rec. Inst. bot. Univ. Brux. **5**, 209 (1902). — SCHMUKKER, T.: Isolierte Gewebe von Zellen und Blätenpflanzen. Planta (Berl.) **9**, 339 bis 341 (1930). — SCHRATZ, E.: Untersuchungen über die Beziehung zwischen Transpiration und Blattstruktur. Planta (Berl.) **16**, 17—69 (1932). — SCOTT, F. M.: Internal suberization of tissues. Bot. Gaz. **111**, 378—394 (1950). — SEYBOLD, A.: Die pflanzliche Transpiration. I. Erg. Biol. **5**, 29—165 (1929). — Die pflanzliche Transpiration II. Erg. Biol. **6**, 559—751 (1930). — Zur Klärung des Begriffs Transpirationswiderstand. Planta (Berl.) **21**, 353—367 (1933). — SHREVE, E.: The daily march of transpiration in a desert perennial. Carnegie Instn. Wash. Publ. **194**, 1—64 (1914). — STÅLFELT, M. G.: Die Abhängigkeit der Spaltöffnungsreaktionen von der Wasserbilanz. Planta (Berl.) 8, 287—340 (1929). — Der stomatäre Regulator in der pflanzlichen Transpiration. Planta (Berl.) **17**, 22—85 (1932). STRUGGER, S.: Die lumineszenzmikroskopische Analyse des Transpirationsstromes in Parenchymen. Biol. Zbl. **59**, 274—288 (1939). — THUT, H. F.: Relative humidity

variations affecting transpiration. Amer. J. Bot. **25**, 539—585 (1938). — Trillat-Matricon, M.: Untersuchungen über die Permeabilität von Cellophanfolien für trockene und feuchte Luft. Ref. Chem. Zbl. **107**, (I) 235 (1936). — Tumanow, J. J.: Ungenügende Wasserversorgung und das Welken der Pflanze als Mittel zur Erhöhung ihrer Dürreresistenz. Planta (Berl.) **3**, 391—480 (1927). — Ulehla, V.: Die Quellungsgeschwindigkeit der Zellkolloide als gemeinschaftlicher Faktor in Plasmolyse, Plasmoptyse und ähnlichen Veränderungen des Zellvolumens. Planta (Berl.) **2**, 618—639 (1926). — Ullrich, H.: Über das Quellungsverhalten von Holz als Substanz mit Ultrafilterstruktur in Abhängigkeit von Größe und Bau der Quellungsmittelmoleküle. Planta (Berl.) **42**, 129—139 (1953). — Ursprung, A., u. G. Blum: Zur Kenntnis der Saugkraft. III. Ber. dtsch. bot. Ges. **37**, 453—462 (1919). — Walter, H.: Protoplasma und Membranquellung. Jb. wiss. Bot. **62**, 145—213 (1923). — Der Wasserhaushalt der Pflanze in quantitativer Betrachtung. Naturwiss. u. Landw. **6** (1925). — Die Hydratur der Pflanze. Jena 1931. — Die kryoskopische Bestimmung des osmotischen Wertes bei Pflanzen. In Handbuch der biologischen Arbeitsmethode, Abt. XI, Teil 4, S. 353—371. 1931. — Grundlagen des Pflanzenlebens. Stuttgart 1947. — Wiesner, J.: Studien über das Welken von Blüten- und Laubsprossen. Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl. **86** (1882).

Dr. Gottfried Klemm,
Stuttgart-Degerloch, Sonnenberg, A.-Wolf-Straße 52

Planta, Bd. 47, S. 588—612 (1956)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Köln

DAS POLLENSCHLAUCHWACHSTUM NACH ARTEIGENER UND ARTFREMDER BESTÄUBUNG EINIGER SOLANACEEN UND DIE INHALTSSTOFFE IHRES POLLENS UND IHRER GRIFFEL*

Von

SIEGFRIED BELLARTZ

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 21. Juni 1956)

A. Einleitung

Bei Kreuzungen innerhalb einer Art oder bei Selbstungen können Störungen des Pollenschlauchwachstums auftreten, wenn entsprechende Selbststerilitätsallele vorliegen. Es ist sehr wahrscheinlich, daß hierbei Immunitätsreaktionen erfolgen.

Gestörte Wachstumsverhältnisse aller Grade zeigen die Pollenschläuche auch bei Art- und Gattungskreuzungen. Sie werden in vorliegender Arbeit quantitativ an Pflanzen aus der Familie der Solanaceen erfaßt. Dabei dient *Petunia hybrida* vornehmlich als Partner, da sie in vieler Hinsicht bereits eingehend untersucht ist. Im zweiten Teil der Untersuchungen analysieren wir die stofflichen Grundlagen des Wachstums in den verwendeten Griffeln und Pollen.

Die Hemmungserscheinungen der Pollenschläuche nach artfremder Bestäubung können auf verschiedenen Ursachen beruhen. Zunächst einmal ist es denkbar, daß auch hier Immunitätsreaktionen eintreten; dieser Fall soll nicht näher in Betracht gezogen werden. Daneben besteht aber auch die Möglichkeit, daß zwar die Plasmen von Pollen und Griffeln miteinander harmonieren, aber die Substrate und die entsprechenden Enzymsysteme nicht aufeinander abgestimmt sind, oder ein Mangel an bestimmten Bau- oder Betriebsstoffen vorliegt, der infolge fehlender oder ungeeigneter Fermente auch nicht behoben werden kann.

B. Material und Methoden

1. Die Versuchspflanzen

Das Pflanzenmaterial stammte größtenteils aus dem Botanischen Garten in Köln. Es wurde hauptsächlich mit *Nicotiana tabacum*, *Petunia hybrida* und *Salpiglossis sinuata* gearbeitet. Die Petunien stellte Prof. STRAUB aus seinen Kulturen

* Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Köln. Herrn Professor Dr. STRAUB danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit sowie für seine beständige Anteilnahme und Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchungen. Ebenfalls möchte ich Herrn Privatdozenten Dr. LINSKENS meinen Dank sagen für die Einführung in die Technik der Papierchromatographie und für seine stetige Hilfsbereitschaft.

zur Verfügung. Wir verwandten zu unseren Versuchen die beiden Klone T_3AF und T_2U, die in bezug auf das Selbststerilitätsgen homozygot sind. T_3AF besitzt die Gene S_1S_1 und T_2U S_3S_3. Die benutzten *Nicotiana tabacum*-Pflanzen sind nach der Beschreibung von KOELLE (1953) wahrscheinlich der Subspecies „*havanensis*" zuzuordnen.

2. *Wachstumsuntersuchungen*

Durch geeignete Maßnahmen wurde eine Selbst- und Fremdbestäubung der Blüten vor den Untersuchungen unterbunden. Wenn die Korollen sich ganz geöffnet hatten, wurden die Blüten an der Basis des Stieles abgeschnitten, mit dem gewünschten Pollen bestäubt und in einem Schälchen mit Wasser in einen dunklen Thermostaten von $24{,}0 \pm 0{,}5^0$ C gestellt. Das Abschneiden der Blüten beeinflußt nicht wesentlich das Schlauchwachstum, wie BUCHHOLZ und BLAKESLEE (1927) im Vergleich mit getopften Pflanzen feststellen konnten. Nach bestimmten Zeitabständen ließ sich die Länge der Schläuche messen, indem die Griffel in 1 mm lange Stückchen zerschnitten und aus diesen das Leitgewebe mit den Schläuchen herauspräpariert wurde. Um die Wachstumsgeschwindigkeit der Pollenschläuche festzustellen, bestäubten wir eine große Menge von Blüten gleichzeitig und untersuchten im Abstand von jeweils 2 Std eine Anzahl von Griffeln. Für jeden Meßpunkt wurde aus mindestens 12 Einzelmessungen der Mittelwert bestimmt. Da die ermittelten Wachstumskurven mehr oder weniger linear verliefen, wurden nach den Anleitungen von MATHER (1951) die Regressionskoeffizienten errechnet, die mit Hilfe des t-Testes voneinander abgesichert wurden. — Zur Bestimmung des maximalen Pollenschlauchwachstums waren Griffelpfropfungen erforderlich, die nach der Methode von STRAUB (1947) durchgeführt wurden.

3. *Papierchromatographie*

Die papierchromatographische Trennung der Zucker und Aminosäuren erfolgte nach den Anleitungen von CRAMER (1954), LINSKENS (1955) und TURBA (1954). Das Pflanzenmaterial wurde mit Quarzsand zerrieben und mit 75%igem Alkohol extrahiert. Als Papier verwandten wir die Sorte 2043b Mgl der Firma Schleicher & Schüll. Es wurde nach der aufsteigenden Methode bei einer Laufzeit von 48 bis 50 Std gearbeitet.

a) Zuckerbestimmung. Die in den Extrakten vorliegenden Zucker wurden nach der Streifenmethode von MATTHIAS (1954) mit dem Lösungsmittel n-Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5 (PARTRIDGE 1948) getrennt. Als Nachweisreagentien dienten Benzidin und Phloroglucin (HORROCKS und MANNING 1949) sowie Tetrazol (WALLENFELS 1950, FISCHER und DÖRFEL 1954).

Die quantitative Bestimmung der Saccharose erfolgte nach dem Nachweis mit Phloroglucin durch Planimetrieren der entstandenen Flecken, da ein Lösungsmittel für den hier vorliegenden Farbstoff bisher nicht bekannt ist (LÜDECKE und STANGE 1953). Die reduzierenden Zucker ließen sich nach Anfärbung mit Tetrazol (Triphenyltetrazoliumchlorid) quantitativ bestimmen. Da die Reduktion von Tetrazol nicht stöchiometrisch verläuft, ließen wir auf jedem Chromatogramm neben den Pflanzenextrakten Mengen von 50, 100, 150 und 200 γ der zu bestimmenden Zucker mitlaufen, so daß zu jedem Chromatogramm spezielle Eichkurven angelegt werden konnten (LÜDERITZ und WESTPHAL 1952). Nach gleichmäßigem Besprühen der Papierstreifen mit Tetrazollösung wurden sie in einem Trockenschrank in wasserdampfgesättigter Atmosphäre 15 min bei 75^0 C erhitzt (WALLENFELS, BERNT und LIMBERG 1953). Die entstandenen roten Farbstreifen wurden mit Methanol-Eisessig (10:1) extrahiert und die Farblösung bei einer Wellenlänge von 530 mμ kolorimetrisch bestimmt. Dazu wurde das Elektrokolorimeter (ELKO II) der Firma Zeiss verwandt.

b) Analyse der freien und gebundenen Aminosäuren. Zur vollständigen Auftrennung der Aminosäuren mußte zweidimensional gearbeitet werden. Als Lösungsmittel verwandten wir wieder das „PARTRIDGE"-Gemisch (1. Richtung) und 80%iges wäßriges Phenol (2. Richtung). Wenn die Bogen aus dem Phenol kamen, mußten sie besonders vorsichtig getrocknet werden (nicht über 35° C), da bei höheren Temperaturen die Aminosäuren in Anwesenheit von Phenol teilweise zerstört werden (FOWDEN 1951, BRUSH und Mitarbeiter 1951).

Zum Nachweis der Aminosäuren diente Ninhydrin- (CRAMER 1954) oder Isatinlösung (BLOCK, DURRUM und ZWEIG 1955). — Durch die Kupfercarbonatmethode von CRUMPLER und DENT (1949) konnten die α-Aminosäuren von den ω-Aminosäuren abgetrennt werden. — Zur eindeutigen Bestimmung oxydierten wir die schwefelhaltigen Aminosäuren vor der Chromatographie mit Wasserstoffsuperoxyd nach dem Verfahren von PERNIS und WUNDERLY (1953).

Unter den vielen Vorschlägen zur quantitativen Bestimmung der Aminosäuren wählten wir die Methode von NAFTALIN (1948) und DAVIDSON, SOWDEN und ATKINSON (1951) aus.

Zur Analyse der im Eiweiß gebundenen Aminosäuren extrahierten wir das zerriebene Material fünfmal mit 75%igem Alkohol, um so die freien Aminosäuren zu entfernen (THOMPSON und STEWARD 1952). Der Rückstand wurde mit 20%iger HCl 24 Std bei 105° C hydrolysiert. Die weitere Verarbeitung erfolgte wie bei den freien Aminosäuren.

4. Bestimmung des Gesamtstickstoffs

Die Erfassung des Gesamtstickstoffs geschah nach dem Mikrokjeldahl-Verfahren gemäß den Anleitungen von PREGL (1935). Aus dem ermittelten Gesamt-N wurde durch Multiplikation mit dem Faktor 6,25 die im betreffenden Pflanzenmaterial vorliegende Menge an Rohprotein berechnet.

5. Stärkebestimmung

Das Vorliegen von Stärke in den einzelnen Objekten wurde zunächst durch Anfärbung mit Jodjodkalium sichergestellt. Der quantitative Nachweis erfolgte mit Anthron-Reagens (MORRIS 1948) nach der Methodik, wie sie speziell zur Stärkebestimmung von MCCREADY und Mitarbeitern (1950) ausgearbeitet wurde.

6. Fettbestimmung

Qualitativ wurde der Fettnachweis durch Anfärbung mit Sudan oder Lösung von Ceresschwarz (*„Bayer"*) geführt (ROMEIS 1948). Um eine Lokalisation des Fettes im Pollen zu ermöglichen, wurden Synthawachsschnitte angefertigt (TIETZ 1952, LINSKENS 1954a).

Die vorliegende Menge an Rohfett wurde nach vierstündiger Ätherextraktion in einer Soxhlet-Apparatur durch Wägung ermittelt (KAUFMANN 1932). Die anschließende Verseifung und Bestimmung der Verseifungszahl erfolgte nach MEARA (1955).

7. Fermentnachweis

Zur Auftrennung der Fermente in den Pflanzenextrakten bedienten wir uns der Papierelektrophorese unter Verwendung der von GRASSMANN und HANNIG (1952) empfohlenen Apparatur „Elphor H". Die Fermente wurden mit Hilfe von Phosphatpuffer (p_H 6,8) extrahiert. Nach Zentrifugieren und Dekantieren wurde der Extrakt durch Vacuumgefriertrocknung eingeengt und auf einen entsprechenden Papierstreifen aufgesetzt. Die Streifen wurden mit Pufferlösung besprüht und in die Elektrophoresekammer gebracht, die ebenfalls mit Phosphatpuffer (p_H 6,8) beschickt war. Unter Anlegen einer Spannung von 110 Volt erfolgte bei einer Raum-

temperatur von 10° C die Durchführung der Elektrophorese (GRASSMANN und HANNIG 1952). Nach 14 Std wurde der Prozeß unterbrochen, die Streifen der Länge nach in zwei Teile zerschnitten und, dem jeweilig beabsichtigten Fermentnachweis entsprechend, weiterbehandelt. Wir führten Testreaktionen zum Nachweis von sieben Fermenten durch: Amylase, Proteinase und Lipase nach WALLENFELS und PECHMANN (1951); Maltase und Saccharase nach WETTER und CORRIGAL (1954); Phosphorylase und Phosphatase nach LINSKENS (1955b).

Die Untersuchungen wurden im wesentlichen in den Sommermonaten der Jahre 1953, 1954 und 1955 durchgeführt.

C. Untersuchungsergebnisse

I. Untersuchung des Pollenschlauchwachstums nach artfremder und arteigener Bestäubung bei verschiedenen Solanaceen

1. Das Pollenschlauchwachstum nach Bestäubung zwischen Petunia und mehreren Solanaceen

Zu diesen Versuchen wurde die Sippe T_3AF von *Petunia* herangezogen. Ihre Griffel haben eine Länge von 26—32 mm. In der Tabelle 1 sind alle Pflanzen zusammengestellt, die mit *Petunia*-Pollen bestäubt wurden. Die angegebenen Schlauchlängen gehen aus 6—8 Messungen hervor. Wie aus den aufgeführten Daten zu ersehen ist, durchwachsen die Pollenschläuche von *Petunia* die Griffel mehrerer Solanaceen-Arten ohne wesentliche Hemmung. Dieser Fall liegt bei *Browallia demissa*, *Datura ceratocaulis*, *Hyoscyamus niger*, *Nicotiana tabacum*, *Salpiglossis sinuata*, *Solanum luteum*, *Solanum nigrum* und *Solanum lycopersicum* vor. Besonders auffällig ist das Ergebnis bei *Datura metel*, *Datura ceratocaulis* und *Nicotiana tabacum*, da die Griffel dieser Pflanzen erheblich länger sind als die von *Petunia*. Auf *Datura metel* erreichen die *Petunia*-Schläuche maximal eine Länge von 56 mm. Es liegt hier offenbar keine Hemmung vor, wie sie z. B. bei *Cestrum* an der Verdickung der Schlauchspitzen erkannt wurde, sondern die Schläuche scheinen hier irgendwie in ihrem Wachstumsvermögen erschöpft zu sein, sie haben ihre maximale Länge in diesem Griffel erreicht.

Um zu überprüfen, ob auch Fruchtansatz nach Durchwachsen der fremden Griffel erfolgt, wurde eine Anzahl von *Salpiglossis*-Blüten auf den Pflanzen bestäubt. Nach drei Wochen hatten sich aus den Fruchtknoten kleine Kapseln gebildet, die aber keine Samen enthielten. Die Pollenschläuche hatten also weder eine Befruchtung noch eine Parthenokarpie bewirkt.

Neben einem normalen ungehemmten Wachstum der *Petunia*-Schläuche durch die artfremden Griffel zeigen sich auch alle möglichen Stufen der Hemmung auf der Narbe und innerhalb des fremden Griffels. Teilweise keimen die Pollenkörner kaum aus (bei *Solanum dulcamare*), teils wachsen sie eine mehr oder weniger weite Strecke im Griffel.

Tabelle 1. *Wachstum der Pollenschläuche von Petunia hybrida auf artfremden Griffeln*

Pflanzenart	Durchschnittliche Griffellänge in mm	Zeit zwischen Bestäubung und Untersuchung in Std	Durchwachsener Griffelabschnitt in Prozent der Gesamtgriffellänge
Atropa belladonna	25	72	50
Browallia demissa	12	48	100
Cestrum nivellii	19	48	25
Datura ceratocaulis	48	72	100
Datura metel	120	120	45
Datura suaveolens	130	96	14
Fabiana imbricata	12	48	30
Hyoscyamus niger	15	48	100
Nicotiana affinis	52	72	15
Nicotiana sanderae	40	120	38
Nicotiana tabacum	35	48	100
Nierembergia frutescens	15	48	40
Physalis franchetii	8	60	44
Salpiglossis sinuata	31	48	100
Solanum chacoense	11	48	36
Solanum dulcamara	8	48	—
Solanum luteum	3	48	100
Solanum lycopersicum	6	48	100
Solanum nigrum	3	48	100
Solanum sisymbrifolium	12	48	8
Solanum tuberosum	12	72	42

Zu den *reziproken Bestäubungen* wurde in der Hauptsache Pollen der Pflanzen verwendet, auf deren Griffeln *Petunia*-Schläuche ein gutes Wachstum zeigten bzw. durchwuchsen. Wie Tabelle 2 demonstriert, werden alle verwandten Pollensorten auf den Griffeln von *Petunia* gehemmt. Vielfach sind die Schläuche nicht einmal in der Lage, das Narben-

Tabelle 2. *Verhalten des Pollens verschiedener Solanaceen-Arten auf den Griffeln von Petunia*

Pollenspender	Zeit zwischen Bestäubung und Untersuchung in Std	Durchschnittliche maximale Länge der Pollenschläuche
Atropa belladonna	60	8 × ⌀ Pollen
Datura ceratocaulis	60	10 × ⌀ Pollen
Datura metel	48	10 × ⌀ Pollen
Datura suaveolens	72	1 mm
Hyoscyamus niger	72	8 × ⌀ Pollen
Nicotiana affinis	120	18—20 mm
Nicotiana sanderae	84	14—15 mm
Nicotiana tabacum	60	1 mm
Nierembergia frutescens	60	5—8 mm
Salpiglossis sinuata	48	8 × ⌀ Pollen
Solanum lycopersicum	48	1 mm
Solanum sisymbrifolium	48	10—12 mm

gewebe zu durchdringen. Lediglich die Pollenschläuche von *Nicotiana affinis*, *Nicotiana sanderae*, *Nierembergia frutescens* und *Solanum sisymbrifolium* durchwachsen das Narbengewebe und auch noch ein Stück des Griffels.

Nach diesen Ergebnissen tauchte nun die Frage auf, ob die Griffel der Solanaceen-Arten, auf denen *Petunia*-Pollen durchwächst, auch dem Wachstum von Pollenschläuchen anderer Solanaceen keinen Widerstand entgegensetzen. Zur Beantwortung dieser Frage machten wir entsprechende Versuche mit *Nicotiana tabacum* und *Salpiglossis sinuata*.

2. Bestäubungsversuche mit Salpiglossis sinuata und *Nicotiana tabacum*

Wir bestäubten zunächst *Salpiglossis*-Griffel mit Pollen verschiedenster Pflanzenarten. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 3 zusammengefaßt. Diese Aufstellung zeigt die bemerkenswerte Erscheinung, daß auf den Griffeln von *Salpiglossis*, die eine Länge von 28—38 mm haben, außer den *Petunien*-Schläuchen auch die Schläuche mehrerer anderer Solanaceen-Arten durchwachsen. Von den getesteten Solanaceen-Pollen bilden nur die von *Datura* und *Hyoscyamus* eine Ausnahme. Erstaunlich ist diese Leistung für die Schläuche von *Solanum*

Tabelle 3. *Verhalten von artfremden Pollen auf den Griffeln von Salpiglossis sinuata*

Pollenspender	Zeit zwischen Bestäubung und Untersuchung in Std	Durchschnittliche maximale Länge der Pollenschläuche
	1. Solanaceen	
Atropa belladonna	72	durchgewachsen
Datura ceratocaulis	48	6—8 × ⌀ Pollen
Datura metel	48	3—4 mm
Datura suaveolens	48	1 mm
Hyoscyamus niger	48	5—6 mm
Nicotiana affinis	72	durchgewachsen
Nicotiana sanderae	72	durchgewachsen
Nicotiana tabacum	72	durchgewachsen
Nierembergia frutescens	72	durchgewachsen
Petunia hybrida (T_3AF)	72	durchgewachsen
Petunia nyctaginiflora	72	durchgewachsen
Solanum sisymbrifolium	72	durchgewachsen
	2. Nicht-Solanaceen	
Antirrhinum majus	48	2—3 × ⌀ Pollen
Calliopsis drummondii	48	—
Cosmos bipinnatus	48	3—4⌀ × Pollen
Delphinium spec.	48	—
Digitalis purpurea	48	5—6 × ⌀ Pollen
Fuchsia spec.	48	2—3 × ⌀ Pollen
Gloxinia spec.	48	—
Impatiens roylei	48	3—4 × ⌀ Pollen
Ipomoea spec.	48	—
Oenothera organensis	48	—
Phlox drummondii	48	—

sisymbrifolium und *Nierembergia*, die hier eine doppelt bis dreifach so lange Strecke wie im eigenen Griffel zurücklegen.

Die reziproke Bestäubung zeigte, daß *Salpiglossis*-Pollen auf den Narben der Arten, deren Pollenschläuche auf *Salpiglossis*-Griffeln ein sehr gutes Wachstum aufwiesen, überhaupt nicht auskeimte oder nur verhältnismäßig kurze Schläuche entwickelte. Bei *Salpiglossis* tritt also in unseren Versuchen ein umgekehrtes Verhalten zutage wie bei *Petunia*.

Die gleichen Untersuchungen wie an *Salpiglossis* wurden dann auch bei *Nicotiana tabacum* angestellt. Es zeigten sich hier dieselben Ergebnisse.

3. Untersuchungen zum maximalen Pollenschlauchwachstum

Nachdem festgestellt war, daß die Pollenkörner von *Petunia* auf artfremden Griffeln gute Wachstumsbedingungen vorfinden, erschien es von Interesse, auch das maximale Wachstum der *Petunien*-Schläuche auf den fremden Griffeln zu prüfen. Diese Versuche wurden mit Griffeln von *Nicotiana tabacum* und *Salpiglossis sinuata* gemacht. Dazu mußten Griffelpfropfungen vorgenommen werden.

Auf den *Nicotiana*-Griffeln wuchsen die *Petunia*-Schläuche bis zum Fruchtknoten des untergepfropften Griffels und erreichten so eine Länge von 68—70 mm. Versuche, die Schläuche durch einen dritten Griffel hindurchwachsen zu lassen, schlugen fehl. STRAUB (1947) fand, daß Pollenschläuche von *Petunien* auf Griffeln von selbstfertilen Pflanzen der eigenen Art nach Pfropfung höchstens eine Länge von 57—58 mm erreichen. Auf den Griffeln von *Nicotiana tabacum* kommt das Wachstum der *Petunien*-Schläuche also erst in einer wesentlich größeren Entfernung von der Narbe zum Stillstand als auf den Griffeln der eigenen Art. — Gleiche Messungen an *Salpiglossis*-Griffeln ergaben ein maximales Wachstum der Schläuche bis zu 47 mm.

Um zu überprüfen, ob das maximale Wachstum der Schläuche durch Pfropfungen herabgesetzt wird, stellten wir folgenden Versuch an: Ein Griffel von *Datura metel* wurde 40 Std nach Bestäubung mit Pollen von *Petunia* im Abstand von 32 mm von der Narbe abgeschnitten. Von dem verbliebenen Griffelstumpf wurde dann noch ein kleines Stück entfernt und das abgeschnittene Griffelstück mit einer Glascapillare wieder aufgepfropft. Nach 72 Std zeigte sich, daß zwar im Griffelunterstück erheblich weniger Schläuche waren als am Ende des oberen Teiles, daß aber die Schläuche, die das Hindernis der Pfropfstelle überwunden hatten, genau so weit wuchsen wie auf einem normalen Griffel von *Datura metel* (56 mm). Damit ist bewiesen, daß Messungen des maximalen Pollenschlauchwachstums mit Hilfe von Griffelpfropfungen durchaus so zu bewerten sind, als wenn das Wachstum auf *einem* Griffel stattgefunden hätte.

4. Wachstumsgeschwindigkeit der Pollenschläuche

In einer letzten Versuchsreihe sollte die Geschwindigkeit festgestellt werden, mit der arteigener und artfremder Pollen auf Griffeln von *Nicotiana tabacum*, *Salpiglossis sinuata* und *Petunia hybrida* wächst.

a) Die Geschwindigkeit des Pollenschlauchwachstums auf arteigenen Griffeln. Aus Abb. 1 ist ersichtlich, daß die Schläuche bei *Salpiglossis* das schnellste Wachstum aufweisen, während die Geschwindigkeit bei *Nicotiana* und *Petunia* nahezu gleich ist. Der Regressionskoeffizient (Tabelle 4) gibt die Steigung der jeweiligen Kurve und damit die durchschnittliche Wachstumsgeschwindigkeit je Stunde an. Sie beträgt bei *Salpiglossis* 1,75 mm/Std, bei *Petunia* und *Nicotiana* etwa 1,06 mm/Std

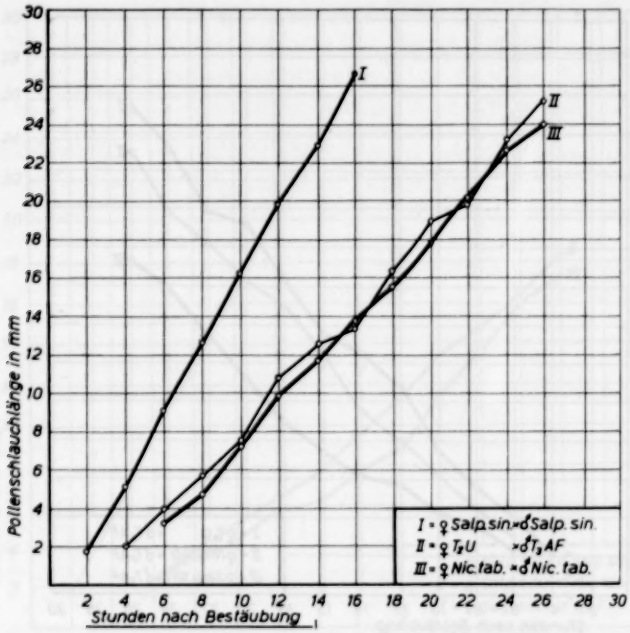

Abb. 1. Vergleich der Wachstumsgeschwindigkeit der Pollenschläuche in Griffeln von *Salpiglossis*, *Petunia* und *Nicotiana tabacum* bei Bestäubung mit arteigenem Pollen

bei der Versuchstemperatur von 24° C. Schon bei der Keimung treten Unterschiede zwischen den drei Arten auf: *Petunia*-Pollen zeigt eine etwas größere Keimungsgeschwindigkeit als Pollen von *Nicotiana*; am schnellsten aber ist *Salpiglossis* in der Ausbildung der Schläuche, die bereits nach 2 Std das Narbengewebe durchdrungen haben.

Tabelle 4. *Statistische Daten zur Abb. 1*

Kreuzung	Regressionskoeffizient b	Varianz des Regressionskoeffizienten Vb	Anzahl der Messungen n	t-Wert	p-Wert
♀ *Salp. sin.* × ♂ *Salp. sin.*	1,7515	0,002017878	61	9,99	$<0{,}001$
♀ T_2U × ♂ T_3AF	1,1040	0,001128100	46		
	1,0635	0,000242801	114	0,31	0,80—0,70
♀ *Nic. tab.* × ♂ *Nic. tab.*	1,0574	0,000140523	131		

b) Die Geschwindigkeit des Wachstums von *Petunia*-Pollenschläuchen auf artfremden Griffeln. Abb. 2 und Tabelle 5 lassen erkennen, daß die *Petunia*-Schläuche auf den Griffeln von *Salpiglossis* und *Nicotiana* langsamer wachsen als auf den *Petunien*-Griffeln. Diese Verlangsamung ist statistisch gesichert. Daneben tritt aber auch bei einem Vergleich der Wachstumskurven der *Petunia*-Schläuche auf *Salpiglossis*- und *Nicotiana*-Griffeln ein signifikanter Unterschied zutage: In

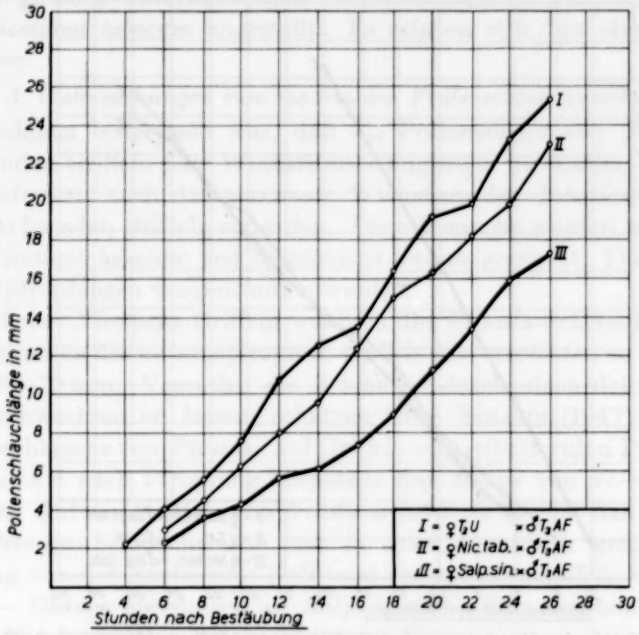

Abb. 2. Vergleich der Wachstumsgeschwindigkeit der Pollenschläuche von *Petunia* auf Griffeln von *Nicotiana tabacum*, *Salpiglossis* und *Petunia*

Salpiglossis-Griffeln ist das Tempo wesentlich langsamer als in den Griffeln von *Nicotiana*. Während die *Petunia*-Schläuche in den arteigenen Griffeln eine Geschwindigkeit von 1,06 mm/Std haben, erreichen sie auf *Nicotiana* 0,999 und auf *Salpiglossis* nur 0,749 mm/Std. Es fällt auf, daß auch die Keimung der Pollenkörner auf den artfremden Narben langsamer vor sich geht als auf den arteigenen.

Tabelle 5. *Statistische Daten zu Abb. 2*

Kreuzung	Regressionskoeffizient *b*	Varianz des Regressionskoeffizienten *Vb*	Anzahl der Messungen *n*	*t*-Wert	*p*-Wert
♀ $T_2U \times ♂ T_3AF$	1,0635	0,000242801	114	3,14	0,01—0,001
♀ *Nic. tab.* × ♂ T_3AF	0,9988	0,000182746	109	10,34	<0,001
♀ *Salp. sin.* × ♂ T_3AF	0,7485	0,000402112	111		

c) Wachstumsgeschwindigkeit artfremder Pollenschläuche auf Griffeln von *Salpiglossis*. Wir brachten auf die *Salpiglossis*-Griffel einmal *Petunien*-Pollen und im zweiten Falle Pollen von *Nicotiana tabacum*. Aus Abb. 3 geht hervor, daß die Wachstumsgeschwindigkeiten der beiden Pollenarten nur geringe Unterschiede zeigen. Die Keimung ist im Vergleich mit dem *Salpiglossis*-Pollen bei beiden Arten im gleichen Maße verlangsamt; aber nach 8 Std weist die Wachstumskurve der *Nicotiana*-

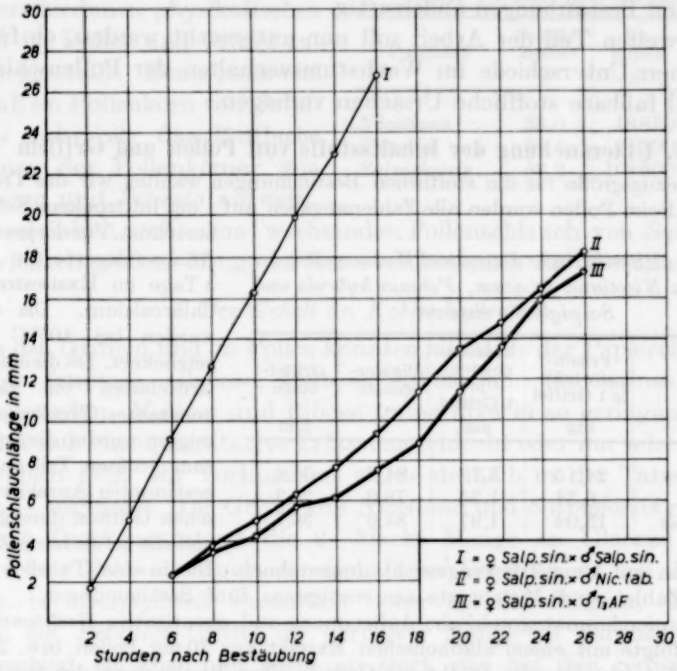

Abb. 3. Vergleich der Wachstumsgeschwindigkeit der Pollenschläuche von *Salpiglossis*, *Nicotiana tabacum* und *Petunia* auf Griffeln von *Salpiglossis*

Schläuche einen etwas steileren Anstieg auf. Im Vergleich mit der Kurve I (Abb. 3) haben die Kurven II und III jedoch einen erheblich kleineren Anstiegswinkel.

Tabelle 6. *Statistische Daten zu Abb. 3*

Kreuzung	Regressionskoeffizient b	Varianz des Regressionskoeffizienten Vb	Anzahl der Messungen n	t-Wert	p-Wert
♀ *Salp. sin.* × ♂ *Salp. sin.*	1,7515	0,002017878	61	19,13	$<0{,}001$
♀ *Salp. sin.* × ♂ *Nic. tab.*	0,6612	0,001234010	61		
	0,8076	0,000174177	134	2,46	0,02—0,01
♀ *Salp. sin.* × ♂ T_3AF	0,7485	0,000402112	111		

Nach Bestäubung der Griffel von *Petunia hybrida*, *Salpiglossis sinuata* und *Nicotiana tabacum* mit artfremdem Pollen verhalten sich die Pollenschläuche charakteristisch verschieden. Artfremde Pollenschläuche wachsen auf *Nicotiana*- und *Salpiglossis*-Griffeln gut, auf *Petunia*-Griffeln schlecht. *Petunia*-Pollenschläuche erreichen auf Griffeln von *Nicotiana* eine größere maximale Länge als auf Griffeln der eigenen Art. Auch die Wachstumsgeschwindigkeit der Pollenschläuche ist bei verschiedenen Bestäubungen andersartig.

Im zweiten Teil der Arbeit soll nun untersucht werden, ob für die gefundenen Unterschiede im Wachstumsverhalten der Pollenschläuche eventuell faßbare stoffliche Ursachen vorliegen.

II. Untersuchung der Inhaltsstoffe von Pollen und Griffeln

Als Bezugsgröße für die stofflichen Bestimmungen wählten wir das Trockengewicht. Beim Pollen wurden alle Zahlenangaben auf 1 mg lufttrockene Substanz berechnet. Vor der jeweiligen Analyse lagerte der Pollen 3 Tage im Exsiccator über Chlorcalcium. Die Griffel wurden bei 105° C 4 Std getrocknet. Da die einzelnen Griffelarten ein ziemlich konstantes Trockengewicht zeigten, wurden die Analysen zum größten Teil an einer bestimmten Anzahl von frischen Griffeln durchgeführt und die gefundenen Zahlenwerte dann auf 1 mg Trockengewicht umgerechnet. Die in den Tabellen angegebenen Zahlen sind Mittelwerte aus wenigstens fünf Bestimmungen.

Tabelle 7. *Physikalische Daten und Wassergehalt der Griffel von Nicotiana tabacum, Petunia hybrida und Salpiglossis sinuata*

Art	Frischgewicht je 1 Griffel mg	Trockengewicht je 1 Griffel mg	Wassergehalt %	Griffellänge mm
Nicotiana .	24,15	3,73	84,6	35,4
Petunia . .	6,31	1,35	78,6	26,3
Salpiglossis.	13,04	1,97	84,9	30,7

Die papierchromatographische Auftrennung und quantitative *Bestimmung der Zucker* erfolgte mit einem alkoholischen Extrakt aus 30 mg Pollen bzw. 2 *Nicotiana*-, 4 *Salpiglossis*- oder 12 *Petunia*-Griffeln. Zur Bestimmung der Saccharose genügten bereits 15 mg Pollen.

Zur *Analyse der freien Aminosäuren* stellten wir Auszüge aus 30 mg Pollen bzw. aus jeweils soviel Griffeln her, wie einem Trockengewicht von 30 mg entsprach. Da es uns nicht — wie auch bei der Bestimmung der Zucker — auf eine absolute quantitative Erfassung ankam, sondern lediglich auf einen Vergleich zwischen den einzelnen Objekten, begnügten wir uns mit einer einmaligen Extraktion von zweistündiger Dauer (bei + 2° C), bei der die Aminosäuren nicht vollständig in Lösung gehen. Für eine erschöpfende Extraktion wären sehr lange Zeiträume mit häufigem Wechsel des Lösungsmittels erforderlich (WOODWARD und RABIDEAU 1953).

Bei der *Auftrennung der Eiweiß-Aminosäuren* übertrugen wir soviel Hydrolysat auf einen Chromatogrammbogen, wie 2 mg Pollen bzw. 4 mg Griffelgewebe entsprach.

Die *Fermentnachweise* wurden zunächst mit 50 mg Pollen oder Griffelmaterial durchgeführt. Bei negativem Ausfall der Nachweisreaktion wurde der Test mit der doppelten Materialmenge wiederholt.

Für die gravimetrische *Erfassung des Rohfettgehalts* diente ein Ätherauszug aus 100 mg Pollen.

Zu den Wachstumsversuchen wurden *Petunia*-Griffel mit S_1S_1 und S_3S_3 verwandt. Bei der stofflichen Untersuchung konnten zwischen den beiden Griffelarten keinerlei qualitative und auch keine auffälligen quantitativen Unterschiede festgestellt werden. Die Serienuntersuchungen zum Vergleich mit den *Salpiglossis*- und *Nicotiana*-Griffeln wurden mit den Griffeln von S_3S_3 durchgeführt; denn diese Sippe ist wesentlich blühfreudiger als die S_1S_1-Sippe.

In den Tabellen 7 und 8 sind die verschiedenen physikalischen Daten für Pollen und Griffel zusammengestellt. Bemerkenswert ist, daß ein Pollenkorn von *Salpiglossis* mehr als das fünffache Volumen der Pollenkörner von *Nicotiana* und *Petunia* aufweist. Wahrscheinlich steht dem wachsenden Pollenschlauch von *Salpiglossis* eine vielfach größere Menge an Reservesubstanzen zur Verfügung.

Tabelle 8. *Durchmesser, Volumen und Wassergehalt der Pollenkörner von Nicotiana, Petunia und Salpiglossis*

Pollenart	Durchmesser μ	Volumen μ^3	Wassergehalt %
Nicotiana .	33,0	18810	4,4
Petunia . .	34,4	21300	3,8
Salpiglossis.	59,2	108600	3,4

1. Der Gehalt an Kohlenhydraten

In den Griffeln und im Pollen konnten mit Hilfe der Papierchromatographie Fructose, Glucose, Maltose, Ribose und Saccharose nachgewiesen werden. Maltose und Ribose traten aber in so geringen Mengen auf, daß sich eine quantitative Erfassung schlecht oder nur sehr ungenau vornehmen ließ. Ihr Vorkommen wurde deshalb in der Tabelle 9 nur durch + angezeigt. Die Griffel von *Nicotiana* und *Salpiglossis* enthalten je 1 mg Trockensubstanz die 2—3fache Menge an Glucose wie die Griffel von *Petunia*. Auch der Gehalt an Fructose ist bei *Nicotiana* wenig, bei *Salpiglossis* wesentlich höher als bei *Petunia*. Ebenfalls zeigen die *Petunien*-Griffel die geringste Menge an Saccharose. Der Unterschied ist aber hier nicht so stark wie bei den reduzierenden Zuckern. Im Stärkegehalt nimmt *Petunia* schließlich eine Mittelstellung zwischen *Nicotiana* und *Salpiglossis* ein.

Beim Kohlenhydratgehalt des Pollens liegen die Verhältnisse anders. Hier weist der *Nicotiana*-Pollen die geringsten Quantitäten an allen

Tabelle 9. *Kohlenhydratgehalt der Griffel und des Pollens von Nicotiana tabacum, Petunia hybrida und Salpiglossis sinuata in γ je 1 mg Trockensubstanz*

Kohlenhydrat	Nicotiana-Griffel	Petunia-Griffel	Salpiglossis-Griffel	Nicotiana-Pollen	Petunia-Pollen	Salpiglossis-Pollen
Fructose . . .	14,9	11,8	32,3	1,1	2,1	4,9
Glucose	30,5	9,7	23,5	1,2	2,8	6,1
Maltose	+	+	+	—	(+)	+
Ribose	+	—	—	+	+	+
Saccharose . .	22,3	18,6	27,1	16,8	21,4	22,0
Stärke	92,5	63,3	42,1	21,2	36,7	41,6

untersuchten Sacchariden auf, und die vorliegende Menge an diesen Substanzen steigt gleichartig über *Petunia*- nach *Salpiglossis*-Pollen an. *Petunia*-Pollen enthält doppelt, *Salpiglossis*-Pollen 4—5mal soviel reduzierende Zucker wie der Pollen von *Nicotiana*.

Die Bestimmung der Stärke in Griffeln und Pollen ergab, daß vielleicht ein Zusammenhang zwischen hohem Stärkegehalt im Griffel und geringem Gehalt im Pollen vorliegen kann (*Nicotiana tabacum* einerseits, *Salpiglossis* andererseits).

2. Ergebnisse der Fettbestimmung

Bei der Voruntersuchung durch Behandeln der Pollenkörner mit Sudanlösung gaben alle Objekte positive Reaktion. Bei den Griffeln enthielt nur das Narbensekret Fett, dem man aber hier nur eine transpirationshemmende Funktion zuspricht (KATZ 1926).

Tabelle 10. *Gehalt an Rohfett und dessen Verseifungszahl im Pollen von Nicotiana, Petunia und Salpiglossis*

Pollenart	Rohfettgehalt in %	Verseifungszahl
Nicotiana	6,7	114,5
Petunia	9,1	125,2
Salpiglossis . . .	10,8	210,0

Bei der quantitativen Bestimmung können im Ätherextrakt neben den eigentlichen Neutralfetten auch noch geringe Mengen an Harzen, Farbstoffen, Sterinen, Phosphatiden und Wachsen enthalten sein (LEHNARTZ 1949). Man bezeichnet den Ätherextrakt daher auch als Rohfett. — Um eventuell grobe Unterschiede in der Zusammensetzung des Rohfettes unserer drei Pollenarten zu finden, wurde es verseift und die Verseifungszahl bestimmt. Die Schlüsse, die man in diesem Falle aus der Verseifungszahl ziehen kann, sind allerdings nicht ganz eindeutig. Wenn z. B., wie aus Tabelle 10 ersichtlich ist, das aus *Salpiglossis*-Pollen extrahierte Rohfett die größte Verseifungszahl aufweist, so kann das einmal daran liegen, daß der Prozentsatz des Unverseifbaren in diesem Falle niedriger ist als bei den *Nicotiana*- und *Petunia*-Pollen. Es ist aber auch möglich, daß bei gleichem Anteil des Unverseifbaren in den verschiedenen Ätherextrakten das Fett des *Salpiglossis*-Pollens aus niederer-molekularen Fettsäuren besteht; denn in diesem Falle wären je Gewichtseinheit Fett mehr verseifbare Gruppen vorhanden.

Die Ergebnisse in Tabelle 10 demonstrieren, daß der Pollen von *Salpiglossis* den höchsten Fettgehalt mit 10,8% aufweist. *Petunia*-Pollen enthält mit 9,1% etwas, *Nicotiana*-Pollen mit 6,7% wesentlich weniger Fett. Die in den einzelnen Pollensorten vorliegenden Fettmengen stehen also in einem ähnlichen Verhältnis zueinander wie die gefundenen Quantitäten an Kohlenhydraten.

Beim Einlegen des Pollens in Wasser oder Sudanlösung tritt Fett in Form mehr oder weniger großer Tröpfchen aus der Oberfläche aus. Dieses Fett stammt aus Hohlräumen der Exine (MÜHLETHALER 1953). Um nun festzustellen, ob das von uns im Ätherextrakt gefundene Fett lediglich in der Exine oder auch im Innern des Pollenkorns lokalisiert ist, wurden von den Pollenkörnern Synthawachsschnitte von 5—10 μ Dicke hergestellt und mit Sudan- bzw. Ceresschwarzlösung angefärbt. Falls das Fett lediglich aus der Exine stammte, könnte man ihm keine Bedeutung als Reservestoff beimessen. Es zeigte sich jedoch auf den Schnitten, daß neben der Exine auch das Innere der Pollenkörner prall mit kleinen Fettröpfchen angefüllt war.

3. Zur Analyse der Stickstoffverbindungen

Möglicherweise liegt die Hemmung von artfremden Pollenschläuchen in den Griffeln von *Petunia* im Gegensatz zum ungehemmten Wachstum derselben Schläuche in den *Salpiglossis*- und *Nicotiana*-Griffeln an einer verschiedenartigen Zusammensetzung der jeweils in Kontakt kommenden Eiweiße. Daneben scheinen die freien Aminosäuren zum mindesten beim ungehemmten Pollenschlauchwachstum von Bedeutung zu sein; denn LINSKENS (1954b) konnte nach Bestäubung und erfolgtem Wachstum der Pollenschläuche eine Abnahme der in Pollen und Griffeln vorhandenen Aminosäuren um 25% feststellen.

Tabelle 11. *Prozentualer Gehalt des Trockengewichts in Pollen und Griffeln von Nicotiana, Petunia und Salpiglossis an Stickstoff und Rohprotein*

Pflanzenorgan	N-Gehalt %	Roh-protein-gehalt %
Nicotiana-Griffel . .	3,32	20,75
Petunia-Griffel . . .	3,11	19,44
Salpiglossis-Griffel .	3,29	20,56
Nicotiana-Pollen . .	7,51	46,94
Petunia-Pollen . . .	6,14	38,38
Salpiglossis-Pollen .	6,03	37,69

Um einen ungefähren Überblick über die Menge der in den einzelnen Objekten vorliegenden Stickstoffverbindungen zu erhalten, wurde zunächst der Gesamtstickstoff bestimmt.

a) Bestimmung des Gesamtstickstoffs. Tabelle 11 zeigt, daß der Rohproteingehalt in den Griffeln aller drei Pflanzenarten etwa 20% des Trockengewichts beträgt. Der Pollen weist einen doppelt so hohen Eiweißgehalt wie die Griffel auf. Auch bestehen hier bemerkenswerte Unterschiede zwischen *Nicotiana*-Pollen einerseits und *Petunia*- und *Salpiglossis*-Pollen andererseits. Die letztgenannten beiden Arten enthalten mit rund 38% wesentlich weniger Eiweiß als der *Nicotiana*-Pollen mit 47%. — Der Proteingehalt unserer Pollenarten ist im Verhältnis zu den von anderen Autoren (ANDERSON und KULP 1922, ELSER und GANZMÜLLER 1931, KIESEL und RUBIN 1929, SARKAR und Mitarbeiter 1949, MARQUARDT und VOGG 1952, VENKATASUBRAMANIAN 1953) in verschiedenen anderen Pollensorten gefundenen Mengen ziemlich hoch.

Neben dem reinen Eiweiß sind im Rohprotein auch noch die freien Aminosäuren, Amine, Ammoniumsalze und andere Stickstoffverbindungen außer den Nitraten erfaßt. Etwa 75—80% des Gesamtstickstoffs bestehen aus Protein-N (KIESEL und RUBIN 1929, FREIBERG und CLARK 1955).

b) Untersuchung der freien Aminosäuren. Auf den Chromatogrammen der Pollenextrakte konnten bei *Petunia* 21, *Salpiglossis* 20 und *Nicotiana* 19 ninhydrinpositive Flecken ermittelt werden. 19 der insgesamt 21 verschiedenen Substanzen wurden als Aminosäuren identifiziert.

Soweit eine quantitative Bestimmung möglich war, sind die entsprechenden Zahlenwerte in Tabelle 12 eingetragen. Bei den zahlenmäßig nicht bestimmten Substanzen sind die Zeichen + oder (+) angegeben. Dabei bedeutet:

+: Die Substanz färbt sich zwar mit 0,05%igem Ninhydrin an, ist aber entweder so gering, daß eine quantitative Bestimmung nur schlecht möglich ist, oder es fehlt, wie im Falle der Pipecolinsäure und der unbekannten Substanzen x und y, ein entsprechendes Reagens zum Aufstellen einer Eichkurve.

(+): Die Substanzmenge ist so gering, daß sie sich mit 0,05%iger Ninhydrinlösung nicht mehr anfärbt. Bei Besprühen mit 0,2%iger Ninhydrinlösung jedoch sind die entsprechenden Flecken noch gut sichtbar.

Bei Betrachtung der Tabelle 12 fällt der hohe Prolingehalt in allen drei Pollenarten auf. Auch andere Untersucher (AUCLAIR und JAMIESON 1948, BATHURST 1954, HATANO 1955) berichten von einer hohen Konzentration an Prolin im Pollen von Pflanzen, die systematisch ganz verschiedener Herkunft waren. Daneben sind noch reichlich Asparaginsäure und Glutaminsäure sowie die beiden zugehörigen Amide vorhanden. Das Asparagin ist nach dem Prolin die stärkste Komponente. Außerdem treten in nennenswerter Menge noch Alanin, γ-Aminobuttersäure, Ornithin, Serin und Arginin auf, das aber bei *Nicotiana*-Pollen fehlt. Das Vorkommen von β-Alanin und γ-Aminobuttersäure konnte mit Hilfe der Methode von CRUMPLER und DENT (1949) gesichert werden.

Tabelle 12. *Freie Aminosäuren im Pollen von Nicotiana, Petunia und Salpiglossis in γ je 1 mg lufttrockenen Pollens*

Aminosäure	Nicotiana	Petunia	Salpiglossis
α-Alanin	0,2	1,1	2,3
β-Alanin	+	(+)	+
γ-Aminobuttersäure	0,6	1,3	1,1
Arginin	—	2,6	2,4
Asparagin	6,2	10,5	8,8
Asparaginsäure	1,3	0,7	1,0
Cystein/Cystin	+	+	+
Glutamin	1,4	3,4	3,4
Glutaminsäure	3,1	3,2	2,6
Glycin	+	+	0,2
Leucin	(+)	(+)	(+)
Lysin	(+)	(+)	3,0
Ornithin	+	0,7	0,7
Pipecolinsäure (?)	+	+	+
Prolin	12,2	14,2	14,5
Serin	0,4	0,8	0,9
Threonin	+	+	+
Tyrosin	(+)	(+)	+
Valin	(+)	(+)	+
x	+	+	+
y	—	+	—

Ein Fleck wurde an Hand mehrerer charakteristischer Merkmale (STEWARD und THOMPSON 1950; ZACHARIUS, THOMPSON und STEWARD 1952; STEWARD, ZACHARIUS und POLLARD 1954) als Pipecolinsäure identifiziert. Sie wurde bisher in Pollen nicht gefunden. Bei den Substanzen x und y handelt es sich wahrscheinlich um α-Aminoverbindungen.

Die Chromatographie der Griffelextrakte brachte die in Tabelle 13 dargestellten Ergebnisse. Auf den Chromatogrammen traten insgesamt 22 Flecken auf, die mit Ninhydrin eine Färbung ergeben hatten. 18 davon konnten als Aminosäuren identifiziert werden. Die Griffel von *Petunia* zeigten 19, die von *Salpiglossis* 15 und *Nicotiana*-Griffel 16 ninhydrinpositive Substanzen. Am stärksten waren die Dicarbonsäuren Asparaginsäure und Glutaminsäure mit ihren Monoamiden vertreten. Besonders das Asparagin war reichlich vorhanden, was in pflanzlichen

Geweben häufig der Fall ist (THOMPSON und STEWARD 1951). Dahinter folgten γ-Aminobuttersäure und Serin. Prolin trat nur bei *Salpiglossis* auf, im Verhältnis zu den im Pollen vorliegenden Mengen aber nur in geringer Konzentration. Alle anderen ninhydrinpositiven Substanzen waren quantitativ kaum erfaßbar.

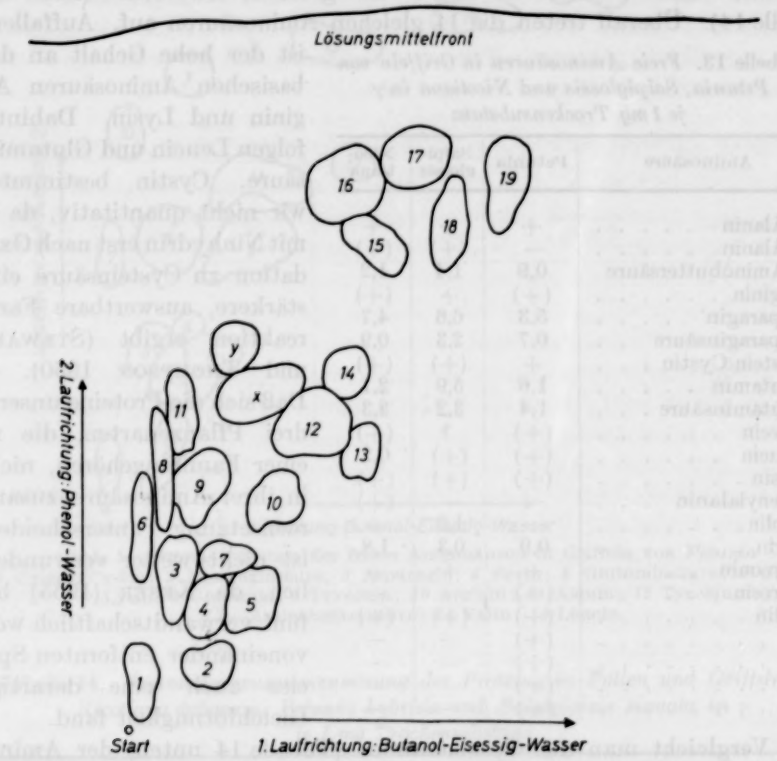

Abb. 4. Chromatogramm der freien Aminosäuren im Pollen von *Petunia hybrida* *1* Cystein/Cystin; *2* Asparaginsäure; *3* Asparagin; *4* Serin; *5* Glutaminsäure; *6* Ornithin; *7* Glycin; *8* Lysin; *9* Glutamin; *10* Threonin; *11* Arginin; *12* Alanin; *13* Tyrosin; *14* β-Alanin; *15* γ-Aminobuttersäure; *16* Prolin; *17* Pipecolinsäure; *18* Valin; *19* Leucin

Während die mit Ninhydrin anfärbbaren Substanzen in *Salpiglossis*- und *Nicotiana*-Griffeln alle als Aminosäuren bestimmt werden konnten, traten in den *Petunien*-Griffeln (S_3S_3) vier unbekannte Verbindungen auf. Ihre Lage auf dem Chromatogramm geht aus Abb. 5 hervor. Eine von ihnen scheint mit der unbekannten Substanz y im *Petunia*-Pollen übereinzustimmen. Bei U_3 könnte es sich eventuell um eines der „Transleucine" METZNERS (1955) handeln, deren Identifizierung noch aussteht. Alle vier unbekannten Substanzen zeigten mit Ninhydrin nur schwache rotblaue Färbung.

Außer dem Unterschied in den unbekannten Flecken wäre vielleicht noch zu bemerken, daß Phenylalanin nur in den Griffeln von *Nicotiana*, Tyrosin nur in *Petunia*-Griffeln und Prolin, wie bereits erwähnt, lediglich bei *Salpiglossis* auftrat.

c) Aminosäurenzusammensetzung der Proteine. Die Eiweiße aller drei Pollen- und Griffelarten zeigen die gleichen Bausteine (siehe Tabelle 14). Überall treten die 14 gleichen Aminosäuren auf. Auffallend ist der hohe Gehalt an den basischen Aminosäuren Arginin und Lysin. Dahinter folgen Leucin und Glutaminsäure. Cystin bestimmten wir nicht quantitativ, da es mit Ninhydrin erst nach Oxydation zu Cysteinsäure eine stärkere, auswertbare Farbreaktion ergibt (STEWARD und THOMPSON 1950). — Daß sich die Proteine unserer drei Pflanzenarten, die zu einer Familie gehören, nicht in ihrer Aminosäurenzusammensetzung unterscheiden, ist nicht weiter verwunderlich, da KESER (1955) bei fünf verwandtschaftlich weit voneinander entfernten Species auch eine derartige Gleichförmigkeit fand.

Tabelle 13. *Freie Aminosäuren in Griffeln von Petunia, Salpiglossis und Nicotiana in γ je 1 mg Trockensubstanz*

Aminosäure	Petunia	Salpiglossis	Nicotiana
α-Alanin	+	+	+
β-Alanin	—	(+)	(+)
γ-Aminobuttersäure	0,9	1,4	1,2
Arginin	(+)	+	(+)
Asparagin	5,3	6,6	4,7
Asparaginsäure	0,7	2,3	0,9
Cystein/Cystin	+	(+)	(+)
Glutamin	1,6	5,9	2,1
Glutaminsäure	1,4	3,2	2,3
Glycin	(+)	?	(+)
Leucin	(+)	(+)	0,2
Lysin	(+)	(+)	(+)
Phenylalanin	—	—	(+)
Prolin	—	1,2	—
Serin	0,9	0,3	1,8
Threonin	+	+	+
Tyrosin	(+)	—	—
Valin	(+)	(+)	(+)
U_1	(+)	—	—
U_2	(+)	—	—
U_3	(+)	—	—
y	(+)	—	—

Vergleicht man die Gesamtsumme (Tabelle 14 unten) der Aminosäuren in Pollen und Griffeln untereinander mit den Werten der Rohproteinbestimmung in Tabelle 11, so erkennt man eine Proportionalität der Zahlenverhältnisse. Man kann daraus schließen, daß die im Rohproteingehalt gefundenen Unterschiede wirklich auf Differenzen im Reinprotein beruhen und nicht auf andere Stickstoffverbindungen zurückzuführen sind, die neben dem Protein-N bei der Gesamtstickstoffbestimmung miterfaßt werden.

Neben Kohlenhydraten, Fetten, Eiweißen und ihren Bausteinen spielen die Fermente beim Pollenschlauchwachstum eine wichtige Rolle. Dies geht schon aus der reichen Ausstattung des Pollens mit diesen Biokatalysatoren hervor (PATON 1921; EULER, AHLSTRÖM, HÖGBERG und PETTERSSON 1945; EULER, HELLER und HÖGBERG 1949; HAECKEL 1951). Wir versuchten daher, die Fermentausstattung des Pollens und der Griffel unserer Versuchspflanzen zu erfassen.

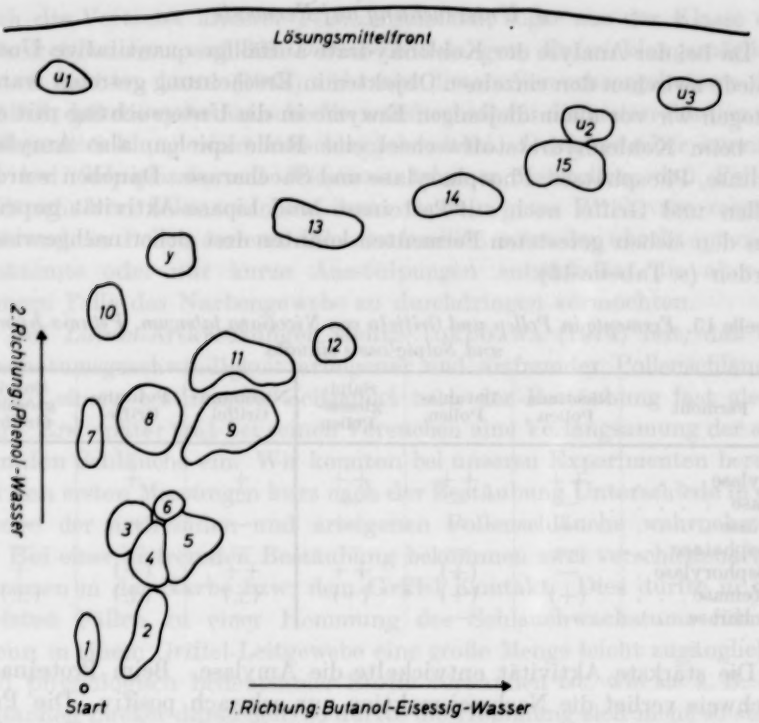

Abb. 5. Chromatogramm der freien Aminosäuren in Griffeln von *Petunia*
1 Cystein/Cystin; *2* Asparaginsäure, *3* Asparagin; *4* Serin; *5* Glutaminsäure; *6* Glycin; *7* Lysin; *8* Glutamin; *9* Threonin; *10* Arginin; *11* Alanin; *12* Tyrosin; *13* γ-Aminobuttersäure; *14* Valin; *15* Leucin

Tabelle 14. *Aminosäurezusammensetzung der Proteine in Pollen und Griffeln von Nicotiana tabacum, Petunia hybrida und Salpiglossis sinuata in γ je 1 mg Trockensubstanz*

Aminosäure	Nicotiana-Pollen	Petunia-Pollen	Salpiglossis-Pollen	Nicotiana-Griffel	Petunia-Griffel	Salpiglossis-Griffel
Alanin	13,7	10,3	11,3	5,1	3,5	5,4
Arginin	39,1	32,4	31,9	10,7	8,9	12,7
Asparaginsäure .	19,9	14,4	14,2	7,9	6,8	6,0
Cystin	+	+	+	+	+	+
Glutaminsäure	32,8	25,9	25,6	12,5	12,2	13,5
Glycin	10,0	9,1	2,8	2,0	1,2	0,7
Leucin	34,6	28,7	31,4	10,6	10,7	12,2
Phenylalanin .	15,7	10,9	15,2	5,3	4,2	5,5
Prolin	12,2	9,4	8,6	6,0	7,4	6,8
Lysin	62,8	65,6	56,4	21,8	22,3	16,8
Serin	21,2	15,9	15,8	8,4	8,5	8,3
Threonin . . .	17,8	13,9	13,7	4,7	4,8	5,9
Tyrosin	19,2	15,6	16,3	6,2	5,1	5,8
Valin	17,8	13,9	16,7	6,3	6,2	5,9
Summe	316,7	266,0	259,9	107.5	101,8	105,5

4. Untersuchung auf Fermente

Da bei der Analyse der Kohlenhydrate auffällige quantitative Unterschiede zwischen den einzelnen Objekten in Erscheinung getreten waren, bezogen wir vor allem diejenigen Enzyme in die Untersuchung mit ein, die beim Kohlenhydratstoffwechsel eine Rolle spielen, also Amylase, Maltase, Phosphatase, Phosphorylase und Saccharase. Daneben wurden Pollen und Griffel noch auf Proteinase- und Lipase-Aktivität geprüft. Von den sieben getesteten Fermenten konnten drei sicher nachgewiesen werden (s. Tabelle 15).

Tabelle 15. *Fermente in Pollen und Griffeln von Nicotiana tabacum, Petunia hybrida und Salpiglossis sinuata*

Ferment	Nicotiana-Pollen	Petunia-Pollen	Salpiglossis-Pollen	Nicotiana-Griffel	Petunia-Griffel	Salpiglossis-Griffel
Amylase . . .	++	++	++	+	+	+
Lipase	—	—	—	—	—	—
Maltase	—	—	—	—	—	—
Phosphatase .	—	—	—	—	—	—
Phosphorylase .	—	(+)	++	++	(+)	+
Proteinase . . .	(+)	(+)	(+)	(±)	(±)	(±)
Saccharase . .	—	—	—	—	—	—

Die stärkste Aktivität entwickelte die Amylase. Beim Proteinase-Nachweis verlief die Nachweisreaktion nur schwach positiv. Die Prüfung auf Tätigkeit der Phosphorylase zeigte die interessante Tatsache, daß die Aktivität des Enzyms der in dem jeweiligen Organ vorliegenden Stärkemenge proportional war (vgl. Tabelle 9). Dies ließ den Verdacht aufkommen, daß bei der Extraktion der Fermente vielleicht auch Stärke mit in Lösung gegangen wäre. Eine daraufhin angesetzte Probe erbrachte aber keinen positiven Stärkenachweis.

Während der Test auf Phosphatase sicher als negativ bezeichnet werden konnte, traten beim Lipase-, Maltase- und Saccharase-Nachweis Unsicherheitsmomente in Erscheinung. Die Lipase sollte ihre Tätigkeit durch Gelbfärbung des Papiers infolge des Abbaues von aufgesprühtem p-Nitrophenylstearat kundtun. Der Pflanzenextrakt war aber von sich aus bereits schwach gelb. — Die Nachweisreaktion für Maltase und Saccharase wurde dadurch erschwert, daß in unseren Extrakten Glucose enthalten war, die wie die Fermente im elektrischen Strom wanderte. — Im Zusammenhang mit dem negativen Ergebnis des Phosphatase-Nachweises erscheint die Feststellung von HAECKEL (1951) interessant, daß Pollen mit hoher Invertase- oder Amylase-Tätigkeit, die ja in unseren Objekten nachgewiesen wurde, wenig Aktivität an Phosphatase aufweist.

D. Besprechung der Ergebnisse

SANZ (1945) bestäubte Griffel von *Datura stramonium* mit Pollen von Pflanzen verschiedenster systematischer Herkunft. Dabei zeigte sich, daß zwar der Pollen von Solanaceen besseres Wachstum aufwies, aber

auch die Vertreter anderer Pflanzenfamilien, sogar aus der Klasse der Monokotyledonen, auf den *Datura*-Griffeln gute Entwicklungsmöglichkeiten fanden. LANG (1949) zieht aus diesen Versuchsergebnissen den Schluß, daß die systematische Verwandtschaft für die ersten Stadien der Pollenentwicklung nicht ausschlaggebend sei. Demgegenüber konnten wir bei *Salpiglossis* und *Nicotiana tabacum* feststellen, daß Pollenschläuche von Solanaceen auf ihren Griffeln gutes Wachstum zeigten, während der Pollen anderer Pflanzenfamilien entweder überhaupt nicht auskeimte oder nur kurze Ausstülpungen entwickelte, die aber in keinem Falle das Narbengewebe zu durchdringen vermochten.

Bei *Lilium*-Artkreuzungen stellte TOKUGAWA (1914) fest, daß die Wachstumsgeschwindigkeit arteigener und artfremder Pollenschläuche bis zu einem bestimmten Zeitpunkt nach der Bestäubung fast gleich war. Erst später trat bei seinen Versuchen eine Verlangsamung der artfremden Schläuche ein. Wir konnten bei unseren Experimenten bereits bei den ersten Messungen kurz nach der Bestäubung Unterschiede in der Länge der artfremden und arteigenen Pollenschläuche wahrnehmen.

Bei einer artfremden Bestäubung bekommen zwei verschiedenartige Plasmen in der Narbe bzw. dem Griffel Kontakt. Dies dürfte in den meisten Fällen zu einer Hemmung des Schlauchwachstums führen. Wenn in einem Griffel-Leitgewebe eine große Menge leicht zugänglicher und physiologisch bedeutsamer Stoffe vorhanden ist, wie sie z. B. die einfachen Zucker darstellen, so dürfte die Hemmung sich nicht so stark auswirken wie bei schwacher Konzentration von verbrauchbaren Stoffen. Diese Ansicht wird gestützt durch die Beobachtung von LINSKENS (1955a), daß bei der Selbstung selbststeriler *Petunien* in der Hemmungsphase eine verstärkte Atmung und ein höherer Verbrauch an freien Zuckern in Erscheinung treten. Unsere Untersuchungen ergaben, daß *Nicotiana*- und *Salpiglossis*-Griffel wesentlich mehr Zucker enthalten als die von *Petunia*. Nicht-Solanaceen-Pollen finden, wahrscheinlich infolge der großen Verschiedenheit der Plasmen, keine Entwicklungsmöglichkeit auf den Griffeln der erstgenannten beiden Arten. Die Solanaceen-Pollenschläuche dagegen überwinden die schwächere Hemmung auf Grund der in den Griffeln von *Nicotiana* und *Salpiglossis* vorliegenden großen Zuckerreserven, während in den *Petunia*-Griffeln das Wachstum der artfremden Schläuche wahrscheinlich infolge des geringen Vorrats an einfachen Sacchariden frühzeitig zum Erlahmen kommt.

Um dieser Annahme eventuell eine Stütze zu verleihen, wurden *Petunien*-Griffel mit beschränkter Pollenmenge bestäubt sowie versucht, den Griffeln (nach der Methode von LINSKENS 1955a) künstlich Glucose zuzuführen. Bei der Bestäubung mit etwa 120 Pollenkörnern erlahmte aber das an sich schon gehemmte Pollenschlauchwachstum früher als bei reichlicher Bestäubung. Dadurch wird der Befund bestätigt, daß das für

das Schlauchwachstum optimale physiologische Milieu in den Griffelgeweben nur dann geschaffen wird, wenn der Pollen in genügender Menge vorhanden ist (POLJAKOW 1952). Durch Infiltration von Glucose in die *Petunia*-Griffel ließ sich auch keine Förderung des Wachstums der artfremden Pollenschläuche erzielen. Dies ist wohl dadurch bedingt, daß die Zucker in der Pflanze höchstwahrscheinlich nicht in der einfachen Form vorliegen, wie sie von uns den Griffeln zugeführt wurden. Bei unseren elektrophoretischen Trennungen zum Nachweis der Fermente konnten wir beobachten, daß sich die Zucker der Pflanzenextrakte im elektrischen Strom bewegen, was sie als reine Zucker nicht tun würden. Es ist daher anzunehmen, daß sie mit elektrisch geladenen Verbindungen gekoppelt sind und nur als solche von physiologischer Wirksamkeit sein können (GAUCH und DUGGER 1953, SCHMUCKER 1935).

Außer bei den Zuckern fanden wir auch noch Unterschiede im Gehalt an freien Aminosäuren bei den drei analysierten Griffelarten. Das Griffelgewebe von *Petunia* enthielt vier unbekannte ninhydrinpositive Substanzen, die bei *Nicotiana* und *Salpiglossis* nicht vorkamen. Vielleicht spielen auch sie bei den unterschiedlichen Entwicklungsmöglichkeiten der artfremden Pollenschläuche eine Rolle.

Nachdem festgestellt war, daß Pollen von Solanaceen auf Griffeln von *Nicotiana* und *Salpiglossis* gute Entwicklungsbedingungen vorfindet, überprüften wir das maximale Wachstumsvermögen von *Petunia*-Pollenschläuchen auf *Nicotiana*-Griffeln, die hier eine größere maximale Länge erreichen als auf arteigenen Griffeln. Vielleicht ist auch hierfür der unterschiedliche Gehalt an Zuckern maßgebend. Die Wände der Pollenschläuche bestehen hauptsächlich aus Cellulose und Kallose. Beide Stoffe sind Polysaccharide, die nur aus Glucose aufgebaut sind (ESCHRICH 1954). Diesen Baustoff finden die Schläuche im Leitgewebe des Griffels vor; aber die vorliegenden Reserven werden nicht ausreichen, so daß auch noch andere Zucker wie Fructose, Saccharose und eventuell auch Stärke ab- bzw. umgebaut werden müssen. Die Pollenschläuche geben dazu Fermente in das Leitgewebe ab. Sie liegen aber im Pollenkorn oder -schlauch nur in begrenzter Menge vor. Deshalb sind dem Pollenschlauch Grenzen seines Wachstums gesetzt. In den Griffeln von *Nicotiana tabacum* ist die dreifache Menge an Glucose vorhanden wie in den *Petunien*-Griffeln. Den wachsenden Pollenschläuchen steht also ihr Baustoff in größerer Konzentration zur Verfügung. Sie brauchen daher weniger Fermente zum Umbau und Abbau anderer Saccharide ins Leitgewebe abzugeben und kommen so länger mit ihren Enzymreserven aus. Infolgedessen erreichen sie eine größere Länge als in den glucosearmen eigenen Griffeln.

Schließlich scheint auch die Keimungsgeschwindigkeit mit dem Gehalt an Sacchariden in Verbindung zu stehen. Bei Bestäubung von

Salpiglossis, *Nicotiana tabacum* und *Petunia* mit Pollen der eigenen Art wachsen die *Salpiglossis*-Schläuche am schnellsten. Dies ist wohl auf den vielfach größeren Gehalt an Reservestoffen in den *Salpiglossis*-Pollen zurückzuführen. Außerdem weisen die *Salpiglossis*-Pflanzen in ihren Griffeln verhältnismäßig große Mengen an Zuckern auf. Die Keimungsgeschwindigkeit der drei Pollenarten verhält sich genau proportional ihrem Gehalt an Kohlenhydraten und Fetten. Nach der Bestäubung von *Nicotiana*- und *Salpiglossis*-Griffeln mit Pollen von *Petunia* dringen die Schläuche in den Griffeln von *Nicotiana* wesentlich schneller vor. Dieser Unterschied könnte in einer besseren plasmatischen Verträglichkeit begründet sein. Ob der Gehalt an den von uns untersuchten Inhaltsstoffen in diesem Falle eine Rolle spielt, erscheint fraglich. Möglicherweise ist auch der Bau des Griffelleitgewebes von Bedeutung. *Nicotiana* hat ein sehr locker gebautes Leitgewebe, das bei Griffelquerschnitten meist herausfällt. In den *Salpiglossis*-Griffeln erscheint das Gewebe dagegen sehr kompakt. Wahrscheinlich vermögen die *Petunia*-Schläuche durch diesen festen Zellverband mit seinen kleinen Intercellularen nicht so schnell zu wachsen, wie das bei den lose zusammenhängenden Leitgewebszellen von *Nicotiana* möglich ist.

Zusammenfassung

1. Pollen von *Petunia hybrida* findet auf Griffeln mehrerer Solanaceen-Arten gute Entwicklungsmöglichkeiten, so daß die Pollenschläuche bis zur Basis des artfremden Griffels durchwachsen. Artfremde Pollenschläuche vermögen jedoch auf *Petunien*-Griffeln nicht oder nur schlecht zu wachsen.

2. Auf Griffeln von *Salpiglossis sinuata* und *Nicotiana tabacum* wachsen die Pollenschläuche mehrerer Solanaceen bis in den Fruchtknoten. Pollen anderer Familien wird aber bereits auf der Narbe gehemmt.

3. Pollenschläuche von *Petunia hybrida* erreichen auf Griffeln von *Nicotiana tabacum* eine größere maximale Länge als auf *Petunien*-Griffeln.

4. Bei Bestäubung der Griffel von *Salpiglossis sinuata*, *Nicotiana tabacum* und *Petunia hybrida* mit arteigenem Pollen wachsen die Pollenschläuche von *Salpiglossis* wesentlich schneller als die der beiden anderen Species.

5. Bringt man Pollen von *Petunia hybrida* auf Griffel von *Nicotiana tabacum* und *Salpiglossis sinuata*, so wachsen die Schläuche schneller in den *Nicotiana*- als in den *Salpiglossis*-Griffeln.

6. Die Griffel von *Nicotiana* und *Salpiglossis* enthalten mehr freie Zucker als die von *Petunia*. Beim Pollen steigt der Kohlenhydratgehalt von *Nicotiana* über *Petunia* nach *Salpiglossis* hin an. Der Fettgehalt der einzelnen Pollenarten ist den Mengen an Kohlenhydraten proportional.

7. Die drei Griffelarten enthalten je Gewichtseinheit ungefähr gleiche Mengen an Rohprotein. *Nicotiana*-Pollen speichert mehr Eiweiß als die beiden anderen Pollenarten. Die Proteine des Pollens und der Griffel von *Nicotiana, Petunia* und *Salpiglossis* haben die gleiche Aminosäurenzusammensetzung.

8. Der Pollen und die Griffel der drei Versuchspflanzen zeigen qualitative Unterschiede in der Zusammensetzung der freien Aminosäuren. Erstmalig wird in Pollen das Vorkommen von Pipecolinsäure wahrscheinlich gemacht.

9. Von sieben getesteten Fermenten konnten drei in dem vorliegenden Pollen- und Griffelmaterial sicher nachgewiesen werden.

10. Der Zusammenhang zwischen den Inhaltsstoffen der Pollen und Griffel und den Wachstumsverhältnissen nach arteigener und artfremder Bestäubung wird besprochen.

Literatur

ANDERSON, R. J., and W. L. KULP: Analysis and composition of corn pollen. J. of biol. Chem. **50**, 433 (1922). — AUCLAIR, J. L., and C. A. JAMIESON: A qualitative analysis of amino acids in pollen collected by bees. Science (Lancaster, Pa.) **108**, 357 (1948). — BATHURST, N. O.: The amino acids of grass pollen. J. of exper. Bot. **5**, 253 (1954). — BLOCK, J. R., E. L. DURRUM and G. ZWEIG: A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis. New York 1955. — BRUSH, M. K., R. K. BONTWELL, A. D. BARTON and C. HEIDELBERGER: Destruction of amino acids during filter paper chromatography. Science (Lancaster, Pa.) **113**, 4 (1951). — BUCHHOLZ, I. T., and A. F. BLAKESLEE: Pollen-tube growth at various temperatures. Amer. J. Bot. **14**, 358 (1927). — Pollen-tube growth in intra- and interspecific pollination between balanced polyploids of Datura. Genetics **26**, 142 (1941). — CRAMER, F.: Papierchromatographie. Weinheim 1954. — CRUMPLER, H. R., and C. E. DENT: Distinctive test for α-amino-acids in paper chromatography. Nature (Lond.) **164**, 441 (1949). — DAVIDSON, D. J., F. J. SOWDEN and H. J. ATKINSON: Application of paper chromatography to identification and quantitative estimation of amino acids in soil organic matter fractions. Soil Sci. **71**, 347 (1951). — ELSER, E., u. J. GANZMÜLLER: Die chemische Zusammensetzung einiger Blütenstaubarten. Z. physiol. Chem. **194**, 21 (1931). — ESCHRICH, W.: Ein Beitrag zur Kenntnis der Kallose. Planta (Berl.) **44**, 532 (1954). — EULER, H. v., L. AHLSTRÖM, B. HÖGBERG u. I. PETTERSSON: Coenzyme, Enzyme, Wuchsstoffe und Reizstoffe in Pflanzenorganen. I. Ark. Kemi, Mineral. Geol., Ser. A **19**, Nr 4 (1945). — EULER, H. v., L. HELLER u. K. G. HÖGBERG: Nukleoproteide aus Pollen von Birke (Betula pubescens). Ark. Kemi, Mineral. Geol., Ser. A **26**, Nr 21 (1949). — FISCHER, F. G., u. H. DÖRFEL: Die quantitative Bestimmung reduzierender Zucker auf Papierchromatogrammen. Z. physiol. Chem. **297**, 164 (1954). — FOWDEN, L.: The quantitative recovery and colorimetric estimation of amino-acids separated by paper chromatography. Biochemic. J. **48**, 327 (1951). — FREIBERG, S. R., and H. E. CLARK: Changes in nitrogen fractions and proteolytic enzymes of soybean plants treated with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Plant Physiol. **30**, 39 (1953). — GAUCH, H. G., and W. M. DUGGER: The rôle of boron in the translocation of sucrose. Plant Physiol. **28**, 457 (1953). — GRASSMANN, W., u. K. HANNIG: Ein quantitatives Verfahren zur Analyse der Serumproteine durch Papierelektrophorese. Z. physiol. Chem. **290**, 1 (1952). — GROBBELAAR, N., J. K. POLLARD and

F. C. Steward: New soluble nitrogen compounds (amino- and imino-acids and amides) in plants. Nature (Lond.) **175**, 703 (1955). — Haeckel, A.: Beitrag zur Kenntnis der Pollenfermente. Planta (Berl.) **39**, 431 (1951). — Hatano, K.: The amino acids in the pollen and female flower of Pinus Thunbergii. Bul. Tokyo Univ. Forests **1955**, Nr 48. — Horrocks, R. H., and G. B. Manning: Partition chromatography on paper. Identification of reducing substances in urine. Lancet **1949**, 1042. — Katz, E.: Über die Funktion der Narbe bei der Keimung des Pollens. Flora (Jena) **20**, 243 (1926). — Kaufmann, H. P.: Fette und Wachse. Aus G. Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. 2, S. 590. Wien 1932. — Keser, M.: Papierchromatographische Untersuchungen über das Auftreten freier und gebundener Aminosäuren in höheren Pflanzen. Planta (Berl.) **45**, 273 (1955). — Kiesel, A., u. B. Rubin: Untersuchungen über pflanzliche Fortpflanzungszellen. III. Beitrag zur Kenntnis der Bestandteile der Pollenkörner der Zuckerrübe. Z. physiol. Chem. **182**, 241 (1929). — Koelle, G.: Untersuchungen über Fremd- und Selbstbefruchtung von Tabak. Dtsch. Tabakbau **1953**, Nr 24, 227. — Kostoff, D.: Studies on the pollen-tubes. II. The dependence between the potency of the pollen-tube growth in foreign styles and the thickness of the pollen-tubes and the chromosome-number. Current Sci. **2**, 464 (1934). — Lang, A.: Entwicklungsphysiologie. Fortschr. Bot. **12**, 340 (1949). — Lehnartz, E.: Einführung in die Chemische Physiologie. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1949. — Linskens, H. F.: Schnelleinbettung mit Aquaffin unter Umgehung der Alkoholstufen. Mikrokosmos **42**, 237 (1954a). — Zur Physiologie der Pollenschlauchhemmung selbststeriler Petunien. Habilitation Phil. Fakult. Univ. Köln 1954b. — Physiologische Untersuchungen zur Pollenschlauchhemmung selbststeriler Petunien. Z. Bot. **43**, 1 (1955a). — Papierchromatographie in der Botanik. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955b. — Lüdecke, H., u. L. Stange: Beitrag zur Frage nach den Störungen des Stoffwechsels in den Blättern vergilbungskranker Zuckerrüben. Zucker **6**, 651 (1953). — Lüderitz, O., u. O. Westphal: Über bakterielle Reizstoffe. II. Mitt. Qualitative und quantitative papierchromatographische Bestimmung der Zuckerbausteine eines hochgereinigten Polysaccharid-Pyrogens aus Colibakterien. Z. Naturforsch. **7b**, 548 (1952). — Lunden, R.: A short introduction to the literature on pollen chemistry. Svensk kem. Tidskr. **66**, 201 (1954). — Maheshwari, P.: The male gametophyt of Angiosperms. Bot. Review **15**, 1 (1949). — Marquardt, P., u. G. Vogg: Pharmakologische und chemische Untersuchungen über Wirkstoffe in Bienenpollen. Arzneimittel-Forsch. **2**, 267 (1952). — Mather, K.: Statistical Analysis in Biology. London 1951. — Matthias, W.: Serienuntersuchungen mit Hilfe einer neuen Form der Streifenpapierchromatographie. Naturwiss. **41**, 17 (1954). — McCready, R. M., J. Guggolz, V. Silviera and H. S. Omens: Determination of starch and amylose in vegetables. Analyt. Chem. **22**, 1156 (1950). — Meara, M. L.: Fats and other lipids. In: K. Paech u. M. V. Tracey, Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, 2. Bd., S. 317. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955. — Metzner, H.: Veränderungen der Blattproteine bei photoperiodischer Induktion. Planta (Berl.) **45**, 493 (1955). — Morris, D. L.: Quantitative determination of carbohydrates with Dreywood's anthrone reagent. Science (Lancaster, Pa.) **107**, 254 (1948). — Mühlethaler, K.: Untersuchungen über die Struktur der Pollenmembran. Mikroskopie (Wien) **8**, 103 (1953). — Naftalin, L.: Quantitative chromatographic estimation of α-amino-acids. Nature (Lond.) **161**, 763 (1948). — Partridge, S. M.: Filter-paper partition chromatography of sugars. Biochemic. J. **42**, 238 (1948). — Paton, J. B.: Pollen and pollen-enzymes. Amer. J. Bot. **8**, 471 (1921). — Pernis, B., and C. Wunderly: Quantitative determination of amino-acids on filter paper. Staining in two stages. Biochim. et biophysica Acta **11**, 209 (1953). — Poljakow, I. M. Über einige Bedingungen der Pollenentwicklung in den Fruchtblattgeweben. In:

Über den Befruchtungsprozeß bei Pflanzen und Tieren. Berlin 1952. — Pregl, F.: Die quantitative organische Mikroanalyse. Berlin 1935. — Romeis, B.: Mikroskopische Technik. München 1948. — Sanz, C.: Pollen-tube growth in intergeneric pollinations on Datura stramonium. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **31**, 361 (1945). — Sarkar, B. C. R., S. H. Wittwer, R. W. Luecke and H. M. Sell: Quantitative estimation of some amino acids in sweet corn pollen. Arch. of Biochem. **22**, 353 (1949). — Schmucker, T.: Über den Einfluß von Borsäure auf Pflanzen, insbesondere keimende Pollenkörner. Planta (Berl.) **23**, 264 (1935). — Steward, F. C., and J. F. Thompson: The nitrogenous constituents of plants with special reference to chromatographic methods. Annual Rev. Plant Physiol. **1**, 233 (1950). — Steward, F. C., R. M. Zacharius and J. K. Pollard: Nitrogenous compounds in plants: Recent knowledge derived from paper partition chromatography. Ann. Acad. Sci. fenn. Ser. A, II **1954**, Nr 60, 321. — Straub, J.: Zur Entwicklungsphysiologie der Selbststerilität von Petunia. Z. Naturforsch. **1**, 287 (1946). — Zur Entwicklungsphysiologie der Selbststerilität von Petunia. II. Das Prinzip des Hemmungsmechanismus. Z. Naturforsch. **2b**, 433 (1947). — Thompson, J. F., and F. C. Steward: Investigations on nitrogen compounds and nitrogen metabolism in plants. II. Variables in two directional paper chromatography of nitrogen compounds: A quantitative procedure. Plant Physiol. **26**, 421 (1951). — The analysis of the alcohol-insoluble nitrogen of plants by quantitative procedures based on paper chromatography. J. of exper. Bot. **3**, 170 (1952). — Tietz, H.: Eine Schnelleinbettungsmethode für histologische Präparate mit „Synthawachs-Gemischen" unter Umgehung der Alkoholstufen, besonders nach Imbition von leicht wasser- und lipoidlöslichen Stoffen. Z. wiss. Mikrosk. **61**, 129 (1952). — Tokugawa, Y.: Zur Physiologie des Pollens. J. Coll. Sci. Tokyo Imp. Univ. **35**, Art. 8 (1914). — Turba, F.: Chromatographische Methoden in der Protein-Chemie. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954. — Venkatasubramanian, M. K.: Pollen and pollen-tube studies in rice. Madras Agricult. J. **40**, 395 (1953). — Wallenfels, K.: Über einen neuen Nachweis reduzierender Zucker im Papierchromatogramm und dessen quantitative Auswertung. Naturwiss. **37**, 491 (1950). — Wallenfels, K., E. Bernt u. G. Limberg: Quantitative Bestimmung reduzierender Zucker durch Papierchromatographie sowie eine Anwendung zur Mikrobestimmung der Blutzucker. Angew. Chem. **65**, 581 (1953). — Wallenfels, K., u. E. v. Pechmann: Über die Trennung von Enzymgemischen durch Elektrophorese in Filterpapier. Angew. Chem. **63**, 44 (1951). — Wetter, L. R., and J. J. Corrigal: Detection of carbohydrase in paper electrophoresis. Nature (Lond.) **174**, 695 (1954). — Woodward, C. C., and G. S. Rabideau: The composition of plant fractions extracted with 80% alcohol. Plant Physiol. **28**, 535 (1953). — Zacharius, R. M., J. F. Thompson and F. C. Steward: The detection, isolation and identification of (—)-pipecolic acid as a constituent of plants. J. Amer. chem. soc. **74**, 2949 (1952).

Siegfried Bellartz, Köln-Marienburg, Goethestr. 83

Planta, Bd. 47, S. 613—624 (1956)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Mainz

ÜBER DIE WIRKUNG VON 2,3,5-TRIJODBENZOESÄURE UND VON 2,4,6-TRICHLORPHENOXYESSIGSÄURE AUF DIE ABGLIEDERUNG ENTSPREITETER BLATTSTIELE

Von

BARBARA HACCIUS und HELMUT NIES

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 18. Juni 1956)

Einleitung

LAIBACH (1933a, b) und LA RUE (1936) haben als erste auf den Zusammenhang zwischen Blattabgliederung („abscission") und Wuchsstoffverteilung in der Pflanze aufmerksam gemacht: Entspreitete *Coleus*-Blattstiele, die normalerweise nach einigen Tagen abfallen, können durch Applikation von Wuchsstoffpräparaten auf die Schnittfläche noch lange Zeit am Sproß erhalten werden. Diese Entdeckung war der Anfang zahlreicher Untersuchungen, die zum Teil auch praktische Bedeutung bekamen.

In einer größeren Versuchsreihe haben WEINTRAUB, BROWN und NICKERSON (1952) für die meisten der bekannten synthetischen Wachstumsregulatoren den Zusammenhang zwischen Molekularstruktur und Hemmung bzw. Förderung von Abgliederungsvorgängen untersucht. Sie fanden, daß im allgemeinen die Indolyl- und die α-Naphthylfettsäuren und die wachstumsaktiven ringsubstituierten Phenoxysäuren die Separationen hemmen, während sie durch 2,3,5-Trijodbenzoesäure, Isopropyl-N-Phenylcarbamat, Maleinhydrazid und andere als sog. Hemmstoffe bekannte Verbindungen beschleunigt werden. Die relative Empfindlichkeit der Testpflanze wies dabei erhebliche jahreszeitliche Unterschiede auf, ohne daß das Gesamtergebnis dadurch beeinflußt worden wäre.

Einige Erfahrungen der landwirtschaftlichen Praxis scheinen hierzu im Widerspruch zu stehen. So kennt man Methoden zur vorzeitigen Entblätterung von Obstbaumsämlingen (Baumschulware) oder zur künstlichen Herbeiführung des Abfalls von Jungfrüchten, bei denen typische Wuchsstoffe, wie die α-Naphthylessigsäure (NAA) unter gewissen Voraussetzungen die Trennungsvorgänge fördern. Diese Abweichungen vom üblichen Verhalten lassen sich jedoch im allgemeinen als die Folge indirekter Effekte der angewandten Substanzen, bzw. ihrer Dosierung, erklären (vgl. LUCKWILL 1953).

ADDICOTT und LYNCH (1951) beobachteten, daß nur eine von der Trennungszone distale Applikation der β-Indolylessigsäure den Abfall

der entspreiteten Blattstiele hemmen könne, während eine proximale ihn sogar fördere. Die Autoren sahen darin jedoch ebenfalls keine direkte Wirkung des proximal applizierten Wuchsstoffes, sondern sie nahmen auf Grund der „Gradiententheorie" (Shoji, Addicott und Swets 1951) an, daß die Konzentrationsunterschiede distal und proximal der Abgliederungszone und nicht die absolute Menge der zugeführten Wirkstoffe für den Effekt entscheidend seien.

Weitere Arbeiten schienen zunächst für die Richtigkeit dieser Hypothese zu sprechen. So fanden Rosetter und Jacobs (1953) und Jacobs (1954 und 1955), daß das Vorhandensein der Endknospe oder auch nur entfalteter Blätter den Abfall entspreiteter Blattstiele an der gleichen Pflanze deutlich stimuliert, während ihr Fehlen ihn hemmt. Die Verfasser erklären diesen Effekt, wenigstens zum Teil, im Sinne von Addicott als die Folge einer proximalen Zufuhr endogenen Wuchsstoffs aus den intakten Organen.

Eine direkte und vom Ort der Applikation unabhängige Separationen beschleunigende Wirkung einiger von Weintraub und Mitarbeitern als „abscission"-Verzögerer aufgezählten Substanzen konnten wir bei *Limnophila heterophylla*, einer zu den Scrophulariaceen gehörenden Wasserpflanze, feststellen (Haccius 1955), bei welcher nach Anwendung physiologischer Konzentrationen von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D) und β-Indolylessigsäure (IES) Sproßabgliederung auftritt.

Fast gleichzeitig mit unseren Beobachtungen haben Gaur und Leopold (1955) Ergebnisse über direkt den Blattabfall beschleunigende Wirkungen sehr niedriger Wuchsstoffkonzentrationen (NAA und IES) veröffentlicht, und zwar sowohl bei distaler als auch bei proximaler Applikation. Die Verfasser schließen, daß der die Trennungsvorgänge kontrollierende Faktor nicht das Verhältnis der Wuchsstoffkonzentrationen beiderseits der Trennungszone, sondern die absolute Menge des zugeführten Wirkstoffs sei.

Dieses Ergebnis fügt sich gut in das Bild, das wir auf Grund von seit Sommer 1954 durchgeführten Versuchen mit sog. „Antiwuchsstoffen" gewonnen haben. Unser Ziel war, den Einfluß dieser Substanzen auf die Abgliederung entspreiteter Blattstiele innerhalb eines vom ersten Auftreten sichtbarer Reaktionen bis zu deutlichen Schädigungen sich erstreckenden Konzentrationsbereichs einigermaßen kontinuierlich zu verfolgen.

Als Testsubstanzen wählten wir 1. die 2,3,5-Trijodbenzoesäure, die von Weintraub und Mitarbeitern als die bezüglich der „Abscission-Förderung" wirksamste Verbindung bezeichnet wurde, und 2. die 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure, die zu den antagonistischen Phenoxysäuren gehört und durch die man nach Hoffmann (1953) typische wuchsstoffinduzierte Veränderungen, wie Blattepinastie, Krümmungen

und Schwellungen der Stengel, mehr oder weniger vollkommen inhibieren kann. Bei *Limnophila heterophylla* fanden wir, daß die Wirkung einer bezüglich des Abgliederungseffektes optimalen 2,4-D-Lösung durch geeignete Konzentrationen von 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure fast oder ganz aufgehoben wird.

Hauptteil

1. Material und Methoden

a) Versuchspflanzen. Von 14 auf ihre Ansprechbarkeit hin geprüften Gewächshauspflanzen verschiedener Verwandtschaftskreise wurden 3 für größere Versuchsreihen besonders geeignet erscheinende ausgewählt: *Ruellia Devosiana* HORT., *Ruellia strepens (Acanthaceae)* und *Impatiens Marianae (Balsaminaceae)*. Das Versuchsmaterial wurde aus Stecklingen einheitlicher Herkunft herangezogen. Es wurde darauf geachtet, daß sämtliche Pflanzen eines Versuchs unter gleichen Bedingungen (Temperatur, Lichtgenuß, Luftfeuchtigkeit und Bodenzusammensetzung) aufgewachsen waren und gleichzeitig behandelt wurden.

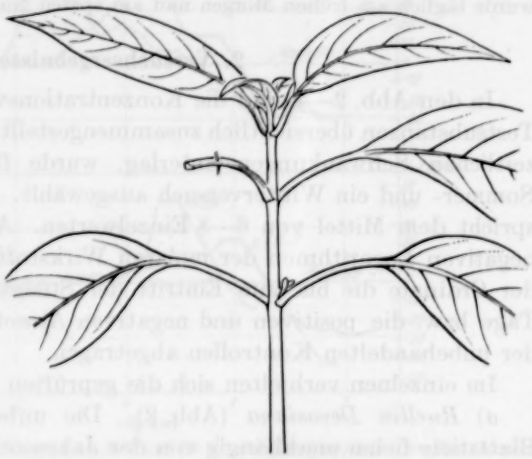

Abb. 1. Sproßende von *Ruellia Devosiana* mit behandeltem entspreitetem Blattstiel

b) Testsubstanzen[1]. 2,3,5-Trijodbenzoesäure (TIBA), Laboratoriumspräparat, Schmp. 226° C; 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure (2,4,6-T), Laboratoriumspräparat, Schmp. 179—180° C.

c) Behandlungsmethode. Die Applikation der Wirkstoffe erfolgte durch Einführen imprägnierter Fäden in die zu behandelnden Pflanzenteile (HACCIUS 1955). Hierzu wurden Stücke von weißem, wenig merzerisiertem Baumwolltwist in methylalkoholische Lösungen der beiden Substanzen eingelegt. Nach etwa einer halben Stunde wurden sie kurz abtropfen lassen und waagrecht aufgehängt schnell getrocknet. Die derart vorbereiteten Fäden wurden mit Hilfe einer chirurgischen Nadel (mit Federöhr) gemäß Abb. 1 in die entspreiteten Blattstiele eingezogen, und zwar jeweils 1 cm oberhalb der Insertion. Um eine unkontrollierbare Anreicherung des Wirkstoffs in der Wunde durch Abstreifen zu vermeiden, wurde stets nur der Anfang des Fadens verwendet und die Nadel nach jeder Applikation neu eingefädelt. Das eingeführte Fadenstück wurde so abgeschnitten, daß die Enden jederseits 2 mm aus dem Gewebe herausragten.

Ein 0,2 cm (Stieldurchmesser) langes Fadenstück vermag im Durchschnitt 1,035 mg Lösung aufzusaugen. Danach würde bei einer Konzentration von 1 ppm das im Stiel steckende Fadenstückchen $1{,}035 \cdot 10^{-9}$ g Substanz enthalten. Rund 0,001 γ Wirkstoff stehen also bei Applikation einer 1 ppm-Lösung dem Gewebe zur

[1] Wir danken Herrn Prof. TH. WIELAND (Frankfurt a. M.) und Herrn Prof. D. JERCHEL (Mainz) für die Präparate.

Verfügung. Darüber allerdings, wieviel davon tatsächlich aufgenommen wird, lassen sich natürlich keine genauen Angaben machen. Das gleiche gilt aber auch für die Verwendung von Pasten oder direkt aufgebrachten Lösungen.

Kontrollen mit unpräparierten oder nur in reinen Methylalkohol getauchten und getrockneten Fäden zeigten, daß das Einziehen des Fadens allein keine Wirkung auf den Zeitpunkt des Stielabfalls hat.

d) Durchführung der Versuche. An sämtlichen Pflanzen einer Versuchsserie wurde immer nur das oberste vollentfaltete Blatt (bei Dekussation eines der beiden obersten) entspreitet und gefädelt (Abb. 1). Nur so war es möglich, mit Blättern gleicher Entwicklungsstufe zu arbeiten und eine gegenseitige Beeinflussung auszuschließen. Mit jeder Pflanzenart wurden je Testsubstanz 4—5 über das ganze Jahr verteilte Versuchsreihen durchgeführt. In jeder Versuchsreihe bekamen jeweils 6—8 Sprosse die gleiche Behandlung. Das Auftreten der Separationen wurde täglich am frühen Morgen und am späten Nachmittag kontrolliert.

2. Versuchsergebnisse

In den Abb. 2—4 sind die Konzentrationswirkungskurven für beide Testsubstanzen übersichtlich zusammengestellt. Da die Reaktion jahreszeitlichen Schwankungen unterlag, wurde für jede Pflanzenart ein Sommer- und ein Winterversuch ausgewählt. Jeder Kurvenpunkt entspricht dem Mittel von 6—8 Einzelwerten. Auf der Abszisse sind die negativen Logarithmen der molaren Wirkstoffkonzentrationen und auf der Ordinate die bis zum Eintritt der Stielabgliederung verstrichenen Tage bzw. die positiven und negativen Abweichungen vom Mittelwert der unbehandelten Kontrollen abgetragen.

Im einzelnen verhielten sich die geprüften Arten wie folgt:

a) Ruellia Devosiana (Abb. 2). Die unbehandelten entspreiteten Blattstiele fielen unabhängig von der Jahreszeit nach $7 \pm 0{,}2$ Tagen ab. *Nach Anwendung der beiden Testsubstanzen konnte man in allen Versuchen einen die Abgliederung gegenüber den Kontrollen verzögernden Konzentrationsbereich feststellen.* Dieser lag im Sommerversuch zwischen $6 \cdot 10^{-5}$ und $9 \cdot 10^{-4}$ m TIBA bzw. zwischen $7{,}8 \cdot 10^{-5}$ und $1{,}7 \cdot 10^{-3}$ m 2,4,6-T. Im Winter reagierte die Pflanze offenbar empfindlicher, da nun der gleiche Effekt schon zwischen $6 \cdot 10^{-6}$ und $4 \cdot 10^{-4}$ m TIBA bzw. $2 \cdot 10^{-5}$ und $1{,}2 \cdot 10^{-3}$ m 2,4,6-T auftrat. Erst bei Wirkstoffmengen, die oberhalb dieses Konzentrationsintervalls lagen, konnte das für „Hemmstoffe" charakteristische abgliederungsfördernde Verhalten beobachtet werden. Das Abfallen der Stiele wurde maximal um 2—3 Tage beschleunigt. Sowohl bezüglich der Verlängerung als auch der Verkürzung der Abgliederungszeit erwies sich die TIBA im allgemeinen als wirksamer gegenüber der 2,4,6-T.

Als die geringste Abweichung vom Durchschnitt der Kontrollen wurde die durch 2,4,6-T im Sommer erzielte maximale Abgliederungsverzögerung von 1,5 Tagen festgestellt. Für sie wurde daher unter Verwendung des von PÄTAU (1943) angegebenen Verfahrens eine Fehlerrechnung durchgeführt. Für den Unterschied zwischen Kontrolle (18 Einzelwerte) und maximaler Hemmung der Abgliederung

(9 Einzelwerte) betrug der gemeinsame mittlere Fehler $F = 0{,}43$. Für die Differenz von 1,5 Tagen ist dann $t = \frac{1{,}5}{0{,}43} = 3{,}49$. Mit einem P-Wert von 0,002 kann der Unterschied in der Verweildauer unbehandelter und unter dem Einfluß von 2,4,6-T stehender Blattstiele als gut gesichert angesehen werden. Da in allen anderen Versuchen die Verzögerung des Blattfalls, bei etwa gleicher Streuung der Meßwerte, noch ausgeprägter war, kann im folgenden auf eine besondere Anführung der Statistik verzichtet werden.

b) ***Ruellia strepens*** (Abb. 3). ***Ruellia strepens*** unterscheidet sich von *R. Devosiana* bereits im Verhalten der unbehandelten entspreiteten

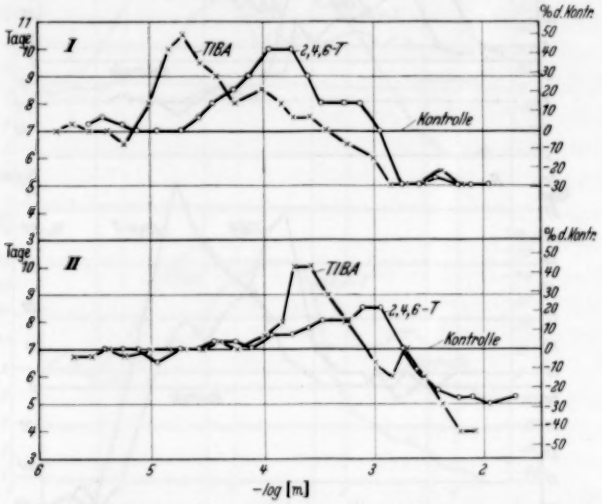

Abb. 2. Die Wirkung von TIBA und 2,4,6-T auf die Stielabgliederung bei *Ruellia Devosiana*. *I* Winterversuch (8. 1. bis 2. 2. 55), *II* Sommerversuch (7. 7. bis 28. 8. 54)

Blattstiele. Bis zu ihrem Abfall dauerte es im Winter durchschnittlich 8,5 und im Sommer 14,5 Tage. Weiter zeichnet sich *R. strepens* gegenüber *R. Devosiana* und allen anderen untersuchten Arten durch eine wesentlich höhere Wirkstoffempfindlichkeit aus. Während bei dieser die niedrigste wirksame Konzentration im Winterversuch bei $6 \cdot 10^{-6}$ m für TIBA und bei $2 \cdot 10^{-5}$ m für 2,4,6-T lag, lauten die entsprechenden Zahlen für *R. strepens* $1{,}5 \cdot 10^{-8}$ m TIBA und $4 \cdot 10^{-8}$ m 2,4,6-T. Von dieser allgemeinen Linksverschiebung der Kardinalpunkte abgesehen glich der Kurvenverlauf im wesentlichen dem für *R. Devosiana* beschriebenen. *Wieder zeigte sowohl die TIBA als auch die 2,4,6-T in den niedrigeren Konzentrationsstufen einen die Separationen hemmenden Bereich.* Im Sommerversuch konnte der Stielabfall maximal 6—7 Tage hinausgezögert werden. Der Umschlag von abgliederungshemmendem zu förderndem Verhalten lag im Sommer bei $3{,}2 \cdot 10^{-5}$ m TIBA bzw. $5{,}5 \cdot 10^{-5}$ m 2,4,6-T und im Winter bei $2 \cdot 10^{-6}$ m TIBA bzw. $3 \cdot 10^{-6}$ m 2,4,6-T.

Bei Anwendung höherer Konzentrationen wurde der Stielabfall beschleunigt und zwar im Winter um 1,5—2 und im Sommer um 4 bis 4,5 Tage. Wieder war die Wirksamkeit von TIBA etwas größer als von 2,4,6-T.

c) Impatiens Marianae (Abb. 4). Nach GAWADI und AVERY (1950) zeichnen sich die *Impatiens*-Arten durch einen ziemlich einfachen Ab-

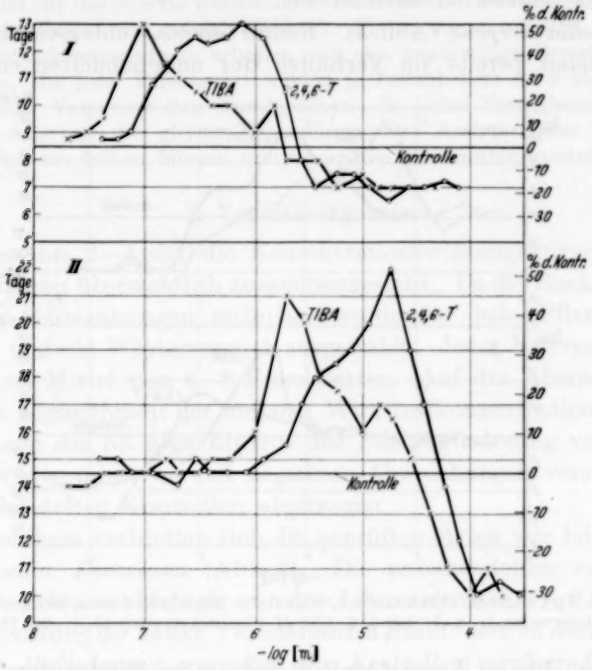

Abb. 3. Die Wirkung von TIBA und 2,4,6-T auf die Stielabgliederung bei *Ruellia strepens*. *I* Winterversuch (27. 12. 54 bis 25. 1. 55), *II* Sommerversuch (20. 7. 54 bis 12. 9. 54)

gliederungsmechanismus aus. Es wird kein besonderes Trennungsgewebe („abscission layer") gebildet, sondern die Abgliederung erfolgt durch Auflösung der Mittellamellen zwischen von ihrer Umgebung nicht unterschiedenen Zellen. Erst einige Tage später beginnen unter der Wundfläche die zu einem Abschlußgewebe („protective layer") führenden sekundären Zellteilungen.

Die in den Kurven Abb. 4 dargestellte Beeinflussung des Stielabfalls durch die geprüften „Hemmstoffe" gleicht im großen ganzen dem für *R. Devosiana* beschriebenen Verhalten. Die unbehandelten Blattstiele fallen im Sommer nach 9 und im Winter nach 7,5 Tagen ab. Die Verzögerung des Abfalls durch Anwendung von 2,4,6-T zwischen $1{,}15 \cdot 10^{-5}$ und $7{,}8 \cdot 10^{-4}$ m (bzw. $2{,}3 \cdot 10^{-3}$) beträgt im Sommer maximal 50% der Kontrollen und im Winter 73%.

Während der Umschlag von abgliederungshemmender zu fördernder Wirkung der 2,4,6-T bei $7{,}8 \cdot 10^{-4}$ bzw. $2{,}3 \cdot 10^{-3}$ m lag, konnte ein solcher für die TIBA überhaupt nicht bestimmt werden, vielmehr blieb bei Anwendung von TIBA oberhalb von $6 \cdot 10^{-4}$ bzw. $1{,}5 \cdot 10^{-4}$ m die Zeit bis zum Stielabfall konstant 9,25 bzw. 10,25 Tage. Hierbei handelt es sich jedoch sicher nicht um einen physiologischen, sondern um einen

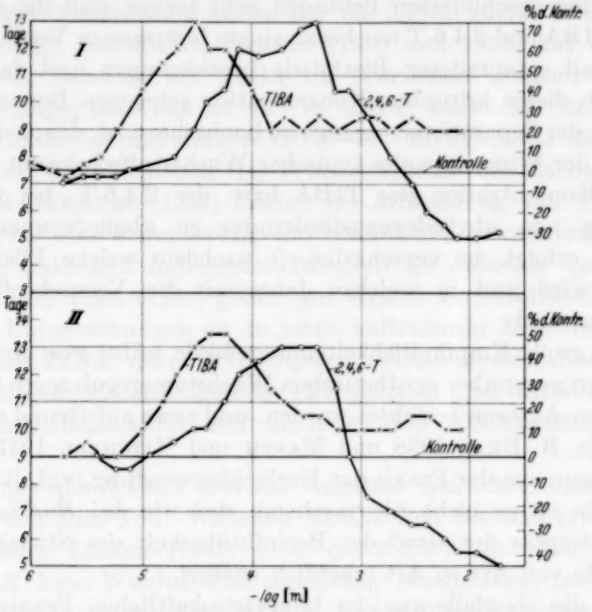

Abb. 4. Die Wirkung von TIBA und 2,4,6-T auf die Stielabgliederung bei *Impatiens Marianae*. *I* Winterversuch (8. 12. bis 30. 12. 54), *II* Sommerversuch (3. 8. bis 7. 9. 55)

toxischen Effekt der angewandten Wirkstoffdosis. Die Blattstiele von *Impatiens Marianae* reagieren der TIBA gegenüber offensichtlich empfindlicher als die der beiden *Ruellia*-Arten. Die mit den erwähnten höheren Konzentrationen von TIBA behandelten Petiolen erscheinen nach einiger Zeit gebräunt und geschrumpft, sie sind infolgedessen nicht mehr zu einem echten, durch Wachstumsregulatoren zu beeinflussenden Abgliederungsprozeß fähig, sondern fallen, wenn die Austrocknung einen bestimmten Grad erreicht hat, infolge geringer Erschütterung passiv ab.

Bei der 2,4,6-T trat im Bereich der angewandten Konzentrationen keine derartige Totalschädigung auf, so daß es, ebenso wie bei *Ruellia Devosiana*, bei Anwendung höherer Dosen zu einer Beschleunigung der Separationen kam, die im Sommer maximal 44% und im Winter 33% der Kontrollen betrug.

Die grundsätzliche Übereinstimmung der Verhältnisse bei *Impatiens Marianae* mit denjenigen bei *Ruellia Devosiana* und den meisten anderen

untersuchten Arten spricht für die Ansicht von Gawadi und Avery (1950), daß die Ausbildung einer präformierten Trennungszone nicht unabdingbare Voraussetzung eines echten Trennungsvorgangs ist.

3. Diskussion

Aus den geschilderten Befunden geht hervor, daß die sog. Hemmstoffe[1] TIBA und 2,4,6-T nur bis zu einem bestimmten Verdünnungsgrad den Abfall entspreiteter Blattstiele beschleunigen und daß in einem unterhalb dieser kritischen Konzentration gelegenen Bereich eine Verzögerung der Separationsvorgänge zu beobachten ist, die an das erinnert, was von der Wirkungsweise typischer Wuchsstoffe bekannt ist.

Die Konzentration der TIBA bzw. der 2,4,6-T, bei welcher der Umschlag von abgliederungsfördernder zu abgliederungshemmender Wirkung erfolgt, ist verschieden, je nachdem welche Pflanzenart behandelt wird und in welcher Jahreszeit die Versuchspflanzen aufgewachsen sind.

Über große Empfindlichkeitsunterschiede selbst von Arten gleicher Gattungen gegenüber synthetischen Wachstumsregulatoren ist von verschiedenen Autoren berichtet worden, und zwar auf Grund von Experimenten (z. B. Beal 1938 und Marth und Mitchell 1947) oder von Erfahrungen aus der Praxis der Herbicidanwendung (vgl. Rademacher 1953). So ist es nicht überraschend, daß wie bei *Ruellia Devosiana* und *R. strepens* der Grad der Beeinflußbarkeit des Stielabfalls durch Wirkstoffe von Art zu Art erheblich variiert.

Über die ebenfalls aus der landwirtschaftlichen Praxis bekannten saisonbedingten Unterschiede in der Wirkstoffempfindlichkeit einzelner Pflanzenarten und ihre vermutlichen Zusammenhänge haben Blackman und Robertson-Cunighame (1955a und b) ausführlicher berichtet. Eigene Untersuchungen hierzu sind im Gang. Die Hauptursache dürfte wohl in den jahreszeitlichen Schwankungen der eingestrahlten Lichtmenge zu suchen sein, da im Gewächshaus alle anderen Umweltfaktoren annähernd konstant gehalten werden können. Auf Grund einer (noch nicht abgeschlossenen) Versuchsreihe mit Tomaten vermuten wir, daß es nicht auf die Tageslängen während oder nach der Wirkstoffapplikation ankommt, sondern auf die Lichtverhältnisse, denen die Versuchspflanzen in der Zeit ihres Heranwachsens ausgesetzt waren.

Bei den artspezifischen Unterschieden in der Reaktionsweise wie auch bei den saisonbedingten Schwankungen handelte es sich in unseren

[1] Wir haben in der Darstellung der Versuche den Ausdruck „Hemmstoffe" aus Gründen der leichteren Verständlichkeit möglichst vermieden, da im allgemeinen die Hemmung von Separationsvorgängen für „Wuchsstoffe" und ihre Förderung für „Hemmstoffe" als charakteristisch gilt.

Versuchen immer nur um quantitative Verschiebungen, die das Gesamtbild der Konzentrationswirkungskurven im wesentlichen nicht verändern konnten. Sowohl die TIBA als auch die 2,4,6-T verhielten sich bezüglich ihrer Wirksamkeit im Abgliederungstest in höheren Konzentrationen wie „Anti-Wuchsstoffe", in niedrigeren wie „Wuchsstoffe".

Den gleichen Umschlag von Hemmstoff- zu Wuchsstoffwirkung mit zunehmender Verdünnung haben für die TIBA zuerst THIMANN und BONNER (1948) beschrieben. ÅBERG (1950 und 1953) hat die wachstumsaktiven Bereiche der TIBA im Wurzeltest genauer bestimmt. Der Umschlagspunkt lag bei 10^{-6} m TIBA; schwächer konzentrierte Lösungen förderten und stärkere (10^{-6}—10^{-5} m) hemmten die Wirkung von IES auf das Wachstum der Primärwurzeln von Flachssämlingen. HÖHN und DRESSLER (1955) fanden bei Anwendung von TIBA-Paste bis 10^{-7} g/cm³ eine Stimulierung und bei höheren Konzentrationen eine Hemmung bakteriell induzierter Tumoren an *Solanum lycopersicum*. KANDLER und FINK (1955) gehen auf Grund von stoffwechselphysiologischen Untersuchungen an in vitro kultivierten Maiswurzeln sogar so weit, die TIBA, deren Wirkungen im Konzentrationsbereich bis zu 10^{-5} m weitgehend denjenigen der IES gleichen, „zu den Verbindungen mit Wuchsstoffcharakter und nicht zu den Wuchsstoffantagonisten zu stellen".

Bezüglich der 2,4,6-T sind die Angaben spärlicher, und sie widersprechen sich zum Teil. Während MCRAE und BONNER (1952), HOFFMANN (1953), LINSER (1954) u. a. die 2,4,6-T als einen typischen Hemmstoff bzw. Wuchsstoffantagonisten beschreiben, fanden MUIR, HANSCH und GALLUP (1949) für $0{,}5 \cdot 10^{-4}$ m 2,4,6-T im Coleoptilentest („straight growth") eine ganz geringe und von den Autoren nicht weiter berücksichtigte positive Wirksamkeit.

Ungeachtet des zuletzt genannten Befundes stellten MCRAE und BONNER (1953, S. 502) in ihrer zusammenfassenden Übersicht fest, daß zwar die antagonistischen Phenoxysäuren aber nicht die TIBA zu den „echten Antiauxinen" zu rechnen seien. Dies wird von KANDLER und EBERLE (1955) und KANDLER und FINK (1955) auf Grund ihrer Untersuchungen über die Beeinflussung des Stoffwechsels bestätigt.

Unsere Feststellung einer weitgehenden Übereinstimmung von TIBA und 2,4,6-T in ihrer positiven und negativen Beeinflussung von Separationsvorgängen muß nicht unbedingt den Ergebnissen KANDLERS widersprechen, ist es doch durchaus denkbar, daß die beiden Substanzen *auf verschiedene Weise in die Abgliederungsprozesse eingreifen*. Einen Hinweis gibt die Beobachtung, daß bei *Impatiens Marianae* die TIBA im Gegensatz zur 2,4,6-T in den oberhalb des wuchsstoffwirksamen Bereichs gelegenen Konzentrationen eindeutig toxisch wirkt.

Über die Wirkungsweise der Wachstumsregulatoren bei ihrem Eingreifen in natürliche oder experimentell provozierte Abgliederungsprozesse gehen die Meinungen noch auseinander. GAWADI und AVERY (1950) und HALL (1952) vermuten, daß der natürliche Blattfall durch eine Verschiebung des Gleichgewichts zwischen genuinem Äthylen und Auxin zugunsten des ersteren zustande komme. In unverletzten Blättern konnte jedoch bisher Äthylen nicht eindeutig nachgewiesen werden. Wie in der Einleitung bereits erwähnt, stellten SHOJI, ADDICOTT und SWETS (1951) auf Grund ihrer Versuche mit Blattgelenkexplantaten eine Auxin-Gradiententheorie auf, die von JACOBS (1955) zu einer Theorie des „Auxin-Auxin-Gleichgewichts" erweitert wurde.

Die Vorstellung von der entscheidenden Bedeutung des vom Blatt zum Stengel hin abfallenden Wuchsstoffgradienten läßt sich jedoch mit den Ergebnissen von GAUR und LEOPOLD (1955) nicht vereinbaren, nach welchen Auxinkonzentrationen über 10 ppm, sowohl distal wie proximal von der Trennungszone angewandt, die Abgliederung hemmen, während niedrigere sie beschleunigen, wenn auch bei proximaler Anwendung die Wirkung etwas intensiver ist als bei distaler. Die Konzentrationswirkungskurven der von GAUR und LEOPOLD angewandten Wuchsstoffe (NAA und IES) würden somit denjenigen der von uns geprüften Antiwuchsstoffe entsprechen, nur ist ihr Verlauf gerade umgekehrt, d. h. auf ein anfängliches abgliederungsförderndes Verhalten folgt mit steigenden Konzentrationen der für die typischen Wuchsstoffe bisher allein als charakteristisch angesehene Hemmbereich.

Sollten sich die von GAUR und LEOPOLD an isolierten Bohnenblattgelenken gewonnenen Ergebnisse auch in Versuchen mit ganzen Pflanzen bestätigen, dann könnte man sie zusammen mit unseren Befunden dahingehend deuten, *daß offenbar nicht nur aus dem Blatt abwandernde Wuchsstoffe, sondern auch (wahrscheinlich proximal angreifende) pflanzeneigene Hemmstoffe regulierend in die natürlichen Abgliederungsprozesse eingreifen.* Es liegt nahe, hierbei an den von SNOW (1937) postulierten und von LIBBERT (1954a und b und 1955) isolierten Korrelationshemmstoff zu denken, hat doch JACOBS (1934 und 1955) eindeutig nachgewiesen, daß Korrelationsvorgänge die Abgliederung entspreiteter Blattstiele entscheidend beeinflussen. In dieser Richtung gehende Vermutungen sind auch von LIBBERT bereits geäußert worden (mündliche Mitteilung). Da jedoch die Wurzel an der Bildung des LIBBERTschen Korrelationshemmstoffs beteiligt ist, muß zunächst versucht werden, die Versuche von GAUR und LEOPOLD an intakten Pflanzen zu wiederholen. Weiter muß berücksichtigt werden, daß man bei der immer deutlicher sich abzeichnenden Mannigfaltigkeit der physiologischen Prozesse die an bestimmten Pflanzenarten gewonnenen Ergebnisse nicht verallgemeinern darf.

Zusammenfassung

Die Wirkung der sog. Hemmstoffe 2,3,5-Trijodbenzoesäure und 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure auf die Abgliederung entspreiteter Blattstiele wurde innerhalb eines größeren Konzentrationsbereichs kontinuierlich verfolgt.

Als Testpflanzen dienten *Ruellia Devosiana*, *R. strepens* und *Impatiens Marianae*. Die zu prüfenden Substanzen wurden mit Hilfe imprägnierter Fäden appliziert.

Sowohl TIBA als auch 2,4,6-T beschleunigten den Stielabfall nur bis zu einem bestimmten Verdünnungsgrad, während niedrigere Konzentrationen die Separationen, ähnlich wie typische Wuchsstoffe, hemmten. Der Konzentrationsbereich, innerhalb dessen der Umschlag von abgliederungsfördernder zu hemmender Wirkung erfolgte, war verschieden, je nachdem welche Pflanzenart behandelt wurde und in welcher Jahreszeit die Versuchspflanzen aufgewachsen waren.

Sowohl bezüglich der Verlängerung als auch der Verkürzung der Abgliederungszeiten erwies sich die TIBA im Vergleich mit der 2,4,6-T im allgemeinen als etwas wirksamer.

Da die TIBA bei *Impatiens Marianae*, im Gegensatz zur 2,4,6-T, in den oberhalb des wuchsstoffaktiven Bereiches gelegenen Konzentrationen toxisch wirkt, wird angenommen, daß die beiden Substanzen, trotz der grundsätzlichen Übereinstimmung des Verlaufs der Konzentationswirkungskurven, auf verschiedene Weise in die Abgliederungsprozesse eingreifen.

Die Vermutung, daß nicht nur aus dem Blatt auswandernde Wuchsstoffe, sondern auch pflanzeneigene Hemmstoffe regulierend in die natürlichen Abgliederungsprozesse eingreifen, wird diskutiert.

Literatur

Åberg, B.: On auxin antagonists and synergists in root growth. Physiol. Plantarum (Copenh.) **3**, 447 (1950). — On the interaction of 2,3,5-triiodobenzoic acid and maleic hydrazide with auxins. Physiol. Plantarum (Copenh.) **6**, 277 (1953). — Addicott, F. T., and R. St. Lynch: Acceleration and retardation of abscission by indoleacetic acid. Science (Lancaster, Pa.) **114**, 688 (1951). — Beal, J. M.: Histological responses of three species of Lilium to indoleacetic acid. Bot. Gaz. **99**, 881 (1938). — Blackman, G. E., and R. C. Robertson-Cuninghame: Interrelationships between light intensity, temperature and the physiological effects of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid on the growth of Lemna minor. J. of exper. Bot. **6**, 156 (1955a). — Interrelationships between light intensity and the physiological effects of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid on the growth of *Helianthus annuus*. J. of exper. Bot. **6**, 177 (1955b). — Gaur, B. K., and A. C. Leopold: The promotion of abscission by auxin. Plant Physiol. **30**, 487 (1955). — Gawadi, A. G., and G. S. Avery jr.: Leaf abscission and the so-called „abscission layer". Amer. J. Bot. **37**, 172 (1950). — Haccius, B.: Durch Wuchsstoffbehandlung induzierte Veränderungen bei *Limnophila heterophylla*, mit besonderer Berücksichtigung der Separationen („abscission") in den Knoten. Beitr. Biol. Pflanz. **31**, 207 (1955). —

Hall, W. C.: Evidence in the auxin-ethylene balance hypothesis of foliar abscission. Bot. Gaz. **113**, 310 (1952). — Höhn, K., und H. Dressler: Krebsdisposition und Wuchsstoffspiegel pflanzlicher Gewebe in verschiedenen Entwicklungsphasen. Beitr. Biol. Pflanz. **32**, 107 (1955). — Hoffman, O. L.: Inhibition of auxin effects by 2,4,6-trichlorphenoxyacetic acid. Plant Physiol. **28**, 622 (1953). — Jacobs, Wm. P.: The physiological mechanism of the natural abscission speeding effect. Progr. 29th Ann. Meet. Amer. Soc. Plant Phys., Sept. 1954, S. 29. — Studies on abscission: The physiological basis of the abscission speeding effect of intact leaves. Amer. J. Bot. **42**, 594 (1955). — Kandler, O., u. G. Eberle: Über den Einfluss von α-Parachlorphenoxyisobuttersäure auf den Stoffwechsel in vitro kultivierter Maiswurzeln. Phyton (Argent.) **5**, 31 (1955). — Kandler, O., u. E. Fink: Über den Einfluß von 2,3,5-Trijodbenzoesäure auf den Stoffwechsel in vitro kultivierter Maiswurzeln. Flora (Jena) **142**, 295 (1955). — Laibach, F.: Wuchsstoffversuche mit lebenden Orchideenpollinien. Ber. dtsch. bot. Ges. **51**, 336 (1933a). — Versuche mit Wuchsstoffpaste. Ber. dtsch. bot. Ges. **51**, 386 (1933b). — La Rue, C. D.: The effect of auxin on the abscission of petioles. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **22**, 254 (1936). — Libbert, E.: Das Zusammenwirken von Wuchs- und Hemmstoffen bei der korrelativen Knospenhemmung. Planta (Berl.) **44**, 286 (1954a). — Zur Frage nach der Natur der korrelativen Hemmung. Flora (Jena) **141**, 271 (1954b). — Nachweis und chemische Trennung des Korrelationshemmstoffes und seiner Hemmstoffvorstufe. Planta (Berl.) **45**, 405 (1955). — Linser, H.: Chemische Konstitution und Zellstreckungswirkung verschiedener Stoffe. Mh. Chem. **85**, 196 (1954). — Luckwill, L. C.: The effect of naphthaleneacetic acid on fruit set and fruit development in apples. J. Horticult. Sci. **28**, 25 (1953). — Marth, P. C., and J. W. Mitchell: Selective herbicidal effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid applied to turf in dry mixtures with fertilizer. Bot. Gaz. **108**, 414 (1947). — McRae, D. H., and J. Bonner: Diortho substituted phenoxyacetic acids as antiauxins. Plant Physiol. **27**, 834 (1952). — Chemical structure and antiauxin activity. Physiol. Plantarum (Copenh.) **6**, 485 (1953). — Muir, R. J., C. H. Hansch and A. H. Gallup: Growth regulation by organic compounds. Plant Physiol. **24**, 359 (1949). — Patáu, K.: Zur statistischen Beurteilung von Meßreihen. Biol. Zbl. **63**, 152 (1943). — Rademacher, B.: Das Verhalten der wichtigsten Grünlandpflanzen gegen herbicide Wuchsstoffe. Z. Acker- u. Pflanzenbau **97**, 1 (1953). — Rosetter, F. N., and W. P. Jacobs: Studies on abscission: The stimulating role of nearby leaves. Amer. J. Bot. **40**, 276 (1953). — Shoji, K., F. T. Addicott and W. A. Swets: Auxin in relation to leaf abscission. Plant Physiol. **26**, 189 (1951). — Snow, R.: On the nature of correlative inhibition. New Phytologist **36**, 283 (1937). — Thimann, K. V., and W. D. Bonner: The action of triiodobenzoic acid on growth. Plant Physiol. **23**, 158 (1948). — Weintraub, R. L., J. W. Brown, I. C. Nickerson and K. N. Taylor: Studies on the relation between molecular structure and physiological activity of plant growth-regulators. I. Abscission-inducing activity. Bot. Gaz. **113**, 348 (1952).

Prof. Dr. B. Haccius, Botanisches Institut der Universität Mainz

Planta, Bd. 47, S. 625—652 (1956)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn

ENDOMITOSEN IM ENDOSPERM VON PEDICULARIS PALUSTRIS L.

Von

KURT STEFFEN

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 7. Juni 1956)

Einleitung

Die Zahl der morphologischen Arbeiten über das Endospermgewebe hat in letzter Zeit beträchtlich zugenommen (zusammenfassender Bericht bei STEFFEN 1955b). Seine Bedeutung für die Taxonomie und das Problem seiner phylogenetischen Wertigkeit haben die Taxonomen, die Zonenbildung in diesem Gewebe die Embryologen beschäftigt. Das Interesse der Cytologen ist durch die Eignung des Endosperms für Gewebekulturen (zuletzt BAJER u. MOLÈ-BAJER 1956) und zu genetischen Untersuchungen (zuletzt RUTISHAUSER 1955a u. b) sowie durch die gewebsspezifische Differenzierung der Kerne in den genannten Zonen (z. B. GEITLER 1955a, STEFFEN 1955a) geweckt worden. Untersuchungen „zur feineren Strukturanalyse der Kerne im Sinne einer karyologischen Anatomie" fehlen fast gänzlich, wie GEITLER (1955a, S. 460) betont. Während die Größe und abweichende Struktur der Kerne in den Endospermhaustorien früh aufgefallen ist und in Analogie zur Endopolyploidie der Suspensorhaustorien (GEITLER 1941, 1948) auch bei ihnen der Verdacht auf endomitotische Polyploidisierung (JACOBSON-PALEY 1920, GRAFL 1940, GEITLER 1953) aufgekommen ist, sind erst in neuerer Zeit im eigentlichen Endospermgewebe endopolyploide Bezirke beschrieben worden (DUNCAN u. ROSS 1950, PUNNETT 1953, STEFFEN 1954, 1955a, GEITLER 1955a u. 1956, TSCHERMAK-WOESS 1956; über polyploide Bezirke anderer Entstehungsart vgl. STEFFEN 1955b).

In der vorliegenden Arbeit wird der Versuch unternommen, embryologisch wohldefinierte Endospermbezirke auf ihren Endopolyploidiegrad zu untersuchen und zu klären, ob auch die Kerne der Endospermhaustorien, wie vermutet, endopolyploid sind. Unter Berücksichtigung embryologischer Gesichtspunkte muß die für die karyologische Anatomie grundsätzlich wichtige Frage gestellt werden, ob und wie weit sich der Polyploidiegrad von Endospermhaustorien exakt erfassen läßt. Das Untersuchungsobjekt gestattet außerdem einen Vergleich der nebeneinander ablaufenden di- und triploiden Endomitosereihen und damit einen Beitrag zum Problem der Endomitose selbst. Besonders beachtet

werden soll in diesem Zusammenhang die präendomitotische Kernvergrößerung, die nach unserer Auffassung den Endomitosecyclus einleitet.

Eigene Untersuchungen

A. Technik

Die Methodik entspricht der bereits früher beschriebenen (STEFFEN 1955a). Die Mikroaufnahmen wurden mit der Leica in Verbindung mit der Aufsatzkamera Mikas auf Agepe-Film aufgenommen. Bei den Aufnahmen der nach FEULGEN gefärbten Präparate bewährte sich ein strenges Grünfilter ($\lambda = 547\ m\mu$). Die Zeichnungen wurden mit dem großen ABBEschen Zeichenapparat oder nach dem Projektionsbild hergestellt.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft dankt der Verfasser für apparative Unterstützung.

Die Literatur wurde nur dann zitiert, falls sie nicht bereits in der vorhergehenden Arbeit (STEFFEN 1955a) aufgeführt worden war. Auf die zusammenfassenden Darstellungen über Endomitose (D'AMATO 1952, GEITLER 1953), Endosperm (STEFFEN 1955b, TSCHERMAK-WOESS 1956) und die Embryologie von *Pedicularis* (SCHMID 1906, BERG 1954) wird verwiesen.

B. Beobachtungen

1. Embryologie

Die embryologischen Befunde sollen nur soweit beschrieben werden, wie sie für das Verständnis und die zeitliche Definition der ablaufenden Endomitosereihen von Bedeutung sind. Wichtig ist der Teilungsmodus des Endosperms, da er Angaben über die Entstehung der Haustorien und den Zeitpunkt ihrer Determinierung erlaubt. Die Determinierung der Haustorien wird bei *Pedicularis* als erfolgt angesehen, wenn in den Haustorien infolge dieser Determinierung nur noch freie Kernteilungen und später Endomitosen ablaufen. Wichtig ist ferner die durch Wasseraufnahme und andere Faktoren bedingte Größen- und Formänderung der Endospermzellen, die die Kerngröße der Endospermzellen beeinflußt.

Die Entwicklung des cellulären Endosperms verläuft in ihrem ersten Abschnitt gesetzmäßig. Die erste, inäquale Teilung liefert eine größere mikropylare und eine kleinere chalazale Kammer (Stadium 1, Abb. 1a). Die chalazale Kammer, deren Kern oft kleiner ist, entwickelt sich zum chalazalen Haustorium. Beim nächsten Teilungsschritt wird die chalazale Zelle zweikernig, weitere Kernteilungen finden in ihr nicht mehr statt. In der mikropylaren Kammer trennt eine unvollständige Scheidewand die beiden gebildeten Kerne (Stadium 2, Abb. 1b). Diese unvollständige Scheidewand wurde bei *Pedicularis palustris* (SCHMID 1906) und vielleicht auch bei *P. zeylanica* (KRISHNA IYENGAR 1942) bisher übersehen und nur bei *P. silvatica* (BERG 1954) festgestellt. Sie ist von phylogenetischem Interesse, da ihr Auftreten als Übergang vom zwei- zum einzelligen Mikropylarhaustorium bei den Scrophulariaceen zu werten ist (GLIŠIC 1937, KRISHNA IYENGAR 1942, CRÉTÉ 1951, BERG

1954). Bei der nächsten Teilung (Stadium 3) entstehen durch eine Querwand zwei mittlere Zellen, die das Endosperm im eigentlichen Sinne darstellen (Abb. 1c). Damit ist das mikropylare Haustorium determiniert worden (also zwei Teilungsschritte später als das chalazale). Im vierten Stadium (Abb. 1d) wird das Mikropylarhaustorium durch freie Kernteilung vierkernig und das Endosperm durch Einschaltung von Querwänden vierzellig. Weitere Kernteilungen finden im Mikropylarhaustorium nicht mehr statt. Die nächsten Teilungsschritte teilen das eigentliche Endosperm durch Längswände in zwei Etagen zu je vier (Stadium 5 der Abb. 1e) und darauf durch antikline Längswände in zwei Stockwerke zu je 8 Zellen, wobei allerdings die Teilung in den oberen, gegen die Mikropyle gekehrten Zellen etwas verzögert sein kann (vgl. Schmid). Damit endet die gesetzmäßig verlaufende Phase der Endospermentwicklung. Die weiteren Teilungen erfolgen nicht mehr synchron und nach keiner bestimmten Regel. Beim Übergang vom 16- zum 32-zelligen Stadium strecken sich die Endospermzellen. Dadurch wird das Mikropylarhaustorium aus dem Bereich des Endothels hinausgeschoben.

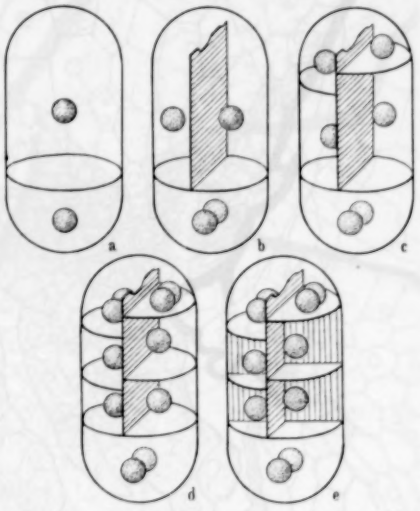

Abb. 1a—e. *Pedicularis palustris* (wie die folgenden). Schematische Darstellung der Endospermentwicklung. Die Zeichnungen sind so orientiert, daß der mikropylare Pol oben liegt. Größenunterschiede der Kerne kamen nicht zur Darstellung. a Stadium 1, chalazales Haustorium determiniert. b Stadium 2, mikropylare Kammer durch unvollständige Wand geteilt, Chalazalhaustorium zweikernig. c Stadium 3, mikropylares Haustorium determiniert; durch Querteilung der mikropylaren Kammer wurde das Endosperm i.e.S. als innere Tochterzellen gebildet. d Stadium 4, mikropylares Haustorium vierkernig, Endosperm i.e.S. vierzellig. e Stadium 5, Endosperm i.e.S. achtzellig

Das aggressive mikropylare Haustorium bildet, nachdem das stärkehaltige Gewebe des Integuments aufgezehrt ist, einen lateralen Ast, in den die vier bereits endopolyploiden Kerne einwandern. Da zu gleicher Zeit das unverzweigte zweikernige chalazale Haustorium nach Zerstörung der Nucelluszellen sein Wachstum einstellt, ist von Berg (1954) der Verdacht ausgesprochen worden, daß sich das laterale und das chalazale Haustorium substituieren (vgl. auch die gleichlautenden Angaben bei Krishna Iyengar für *P. zeylanica*). Das Mikropylarhaustorium dringt durch das Integumentgewebe bis zum Funiculus vor. Meist endet es zwei oder drei Schichten unterhalb der Epidermis, zuweilen erreicht es diese.

Während der Raum des nicht mehr funktionierenden chalazalen Haustoriums durch spezialisierte, endopolyploide Endospermzellen ausgefüllt (Abb. 2) und die chalazale Lücke im Embryosack damit sehr früh geschlossen wird, bleibt das mikropylare Haustorium bis zur Samenreife

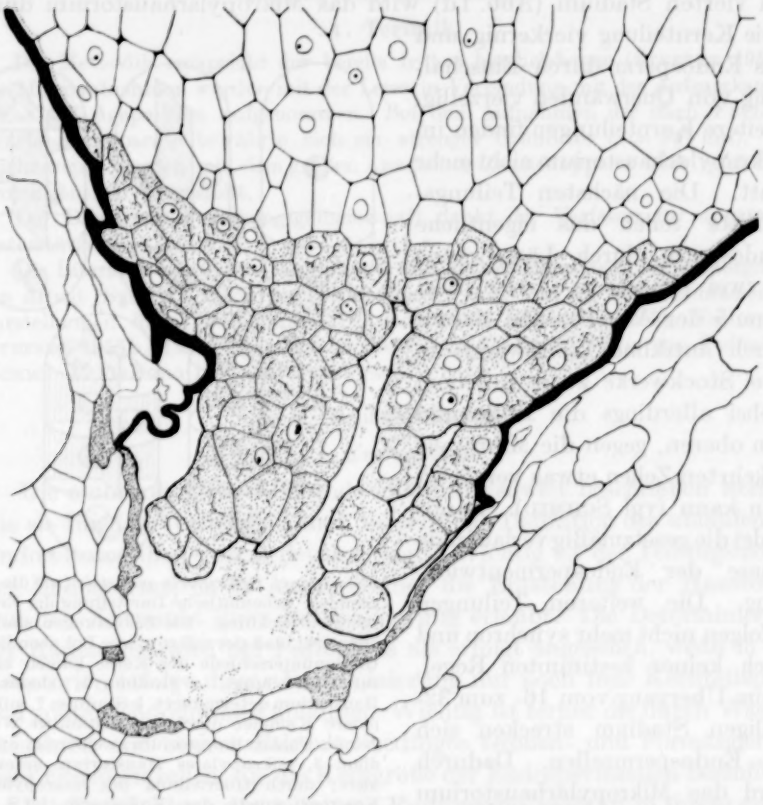

Abb. 2. Längsschnitt durch die Samenanlage. Chalazale Region mit endopolyploiden Endospermzellen, die in den Raum des degenerierten Chalazalhaustoriums eindringen und dort später einen Verschluß bilden. Die endopolyploiden Verschlußzellen wurden durch Punktierung von den Reservestoff führenden, hell gelassenen Endospermzellen unterschieden. Im Plasma der Verschlußzellen partiell angeschnittene Cellulosebalken. Die obliterierten Zellen am Grunde des Chalazalhaustoriums wurden dunkel punktiert, die vom Endothel gebildete Cuticula schwarz und die vom Endosperm gegen die Cuticula abgeschiedene Verdickungsleiste punktiert gezeichnet. — 225fach

intakt. Es erfährt dann eine Umdifferenzierung und funktioniert nach Bildung von Cellulosebalken (Abb. 3; SCHACHT 1850, 1863, TISCHLER 1899, SCHMID, KRISHNA IYENGAR) und Reservestoffspeicherung wie bei *P. silvatica* (BERG) als Elaiosom. Das Elaiosom wird vom Endosperm durch später cutinisierte endopolyploide Endospermzellen getrennt. Damit wird auch die mikropylare Lücke im Embryosack geschlossen (Abb. 3). Vom Endothel her wird eine an das Endosperm grenzende

Cuticularschicht ausgebildet (STEFFEN 1955a), die als Schutzschicht für den Samen funktioniert. Die Schutz- und Verschlußschichten werden also bei *Pedicularis palustris* von endopolyploidem Gewebe gebildet, das entweder von di- (im ersten Fall) oder triploidem Gewebe (im zweiten Fall) herrührt. Alle endopolyploiden Endospermzellen einschließlich der Zellen, deren Kerne die erste Vergrößerungsphase des Endomitosecyclus durchgemacht haben, können Cellulosebalken bilden. Besonders deutlich ist dies im mikropylaren Haustorium (Abb. 3). In den Verschlußzellen werden die Celluloseversteifungen erst kurz vor der Samenreife und dann auch nur in geringerer Anzahl und mit geringerem Durchmesser angelegt (Abb. 2 u. 3). Darum sind sie wohl in diesen Zellen bisher übersehen worden. Bei der größeren Plasmadichte der Verschlußzellen sind sie zudem weniger auffällig. Die Zellwände der Verschlußzellen sind dünner, sie bilden auch keine kollenchymatischen Verdickungen aus wie die übrigen Endospermzellen und in der Randzone auch keine periphere, gegen die Endothelcuticula gerichtete Verdickungsleiste (vgl. Abb. 2 u. 3). Reservestoffe werden in den Verschlußzellen nicht gespeichert.

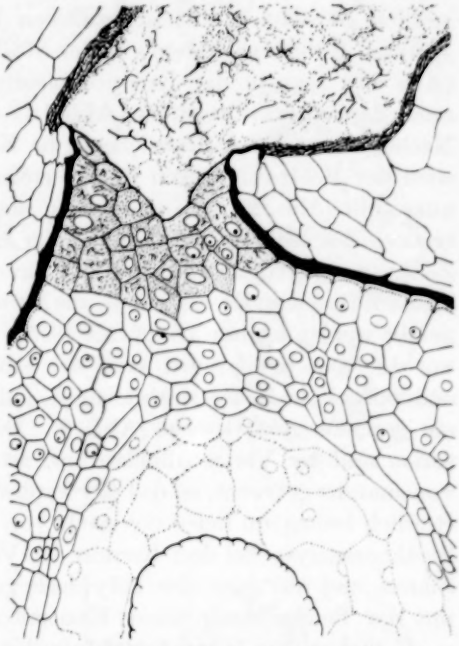

Abb. 3. Längsschnitt durch die mikropylare Region der Samenanlage. Unten der tangential angeschnittene Embryo, von ausgezehrten Endospermzellen (punktierte Umrißlinien) umgeben. Das Endosperm ist durch einen endopolyploiden Gewebepfropf (mit punktiertem Plasma) gegen das Mikropylarhaustorium abgegrenzt. Im Mikropylarhaustorium und in den Verschlußzellen Cellulosebalken. Die vom Endothel gebildete Cuticula wurde schwarz eingezeichnet. — 225fach

II. Cytologie

In den unitegmischen, tenuinucellaten Samenanlagen von *Pedicularis palustris* laufen mehrere Endomitosereihen ab. Die eine bereits früher beschriebene (STEFFEN 1955a) geht vom Endothelgewebe und den angrenzenden Gewebsschichten aus und führt zur 32-Ploidie. Nachuntersuchungen, für deren Anregung ich Frl. Dr. WUNDERLICH, Wien, danke, haben ergeben, daß das Endothel und die angrenzenden Gewebsschichten

sämtlich aus der inneren Integumentepidermis hervorgehen, die an das Endothel angrenzenden Schichten also kein Nucellusgewebe darstellen. Der Nucellus wird frühzeitig vom Embryosack aufgezehrt. — Die anderen Endomitosereihen werden im triploiden Endosperm beobachtet. Sie haben unterschiedlich große Kerne als Ausgangspunkt und entstehen zeitlich getrennt in unterschiedlichen Entwicklungsstadien des Endosperms. Bereits nach dem zweiten Stadium der Endospermentwicklung (Abb. 1b) beginnt die Endopolyploidisierung im Chalazalhaustorium, nach dem vierten Stadium (Abb. 1d) die des Mikropylarhaustoriums. Nachdem im Chalazalhaustorium die Kerne pyknotisch geworden sind, wird der Hohlraum durch 10—15 endopolyploide Endospermschichten ausgefüllt (Abb. 2). Dabei wachsen mehrere zunächst voneinander getrennte Zellreihen in das Haustorium ein. Erst später platten sich die Zellen gegenseitig ab und schließen die chalazale Lücke völlig. Normale Mitosen finden in diesen Zellen, die als sekundäre Haustoriumzellen aufgefaßt werden können (STEFFEN 1955a u. b), nicht mehr statt. — Kurz vor der Samenreife wird auch das Mikropylarhaustorium durch 4—6 endopolyploide Zellagen abgeriegelt, jedoch bilden diese von Anfang an ein geschlossenes Gewebe (Abb. 3). Die Endomitosecyclen der Haustorien und der Verschlußzellen sind zwar zeitlich, aber nicht räumlich voneinander getrennt, so daß der Verdacht einer räumlich beschränkten, stofflich bedingten Induktion nicht von der Hand zu weisen ist. Da die Strukturanalyse bei den Kernen der Verschlußzellen leichter durchzuführen und nur hier der Polyploidiegrad exakt feststellbar ist, wird mit der Beschreibung dieser Endomitosecyclen begonnen.

1. Endomitose in den Verschlußzellen, Der Nachweis der Endomitose wird 1. durch die Strukturanalyse erbracht, die gleichzeitig zeichnerisch die Chromatinvermehrung belegt (vgl. Abb. 4) und 2. durch die rhythmische Wiederkehr der Teilungsstrukturen (Tabelle 1).

Die Endomitose entspricht in allen Einzelheiten dem früher bei den Endothelkernen beschriebenen Ablauf (STEFFEN 1955a), der nur Endointer- und Endoprophase unterscheiden läßt. Es treten zwei Chromozentrentypen auf, die kompakten SAT-Chromozentren und die „lockeren" Chromozentren. Die Zahl der lockeren Chromozentren ist im triploiden Gewebe gegenüber dem diploiden erhöht, die Zahl der SAT-Chromozentren von 4 auf 6 vermehrt (vgl. Abb. 4b, d. u. h). Die SAT-Chromozentren sind formbeständig, während die lockeren sich in der Endoprophase in große, den ursprünglichen scholligen Bereichen der Endointerphase entsprechende Chromomeren gliedern und in diesem Stadium somit aus größeren und kleineren Chromomeren bestehen (Abb. 4c, e, g u. k). Die Tendenz zur Bildung von Sammel-Endochromozentren ist in der triploiden Reihe größer als in der diploiden. Das dürfte zum Teil durch die erhöhte Zahl von Endochromozentren bei zunächst geringerem

Kernvolumen bedingt sein (vgl. dazu Abb. 4d, f u. h und die Abb. 1d, f u. h der früheren Veröffentlichung STEFFEN 1955a).

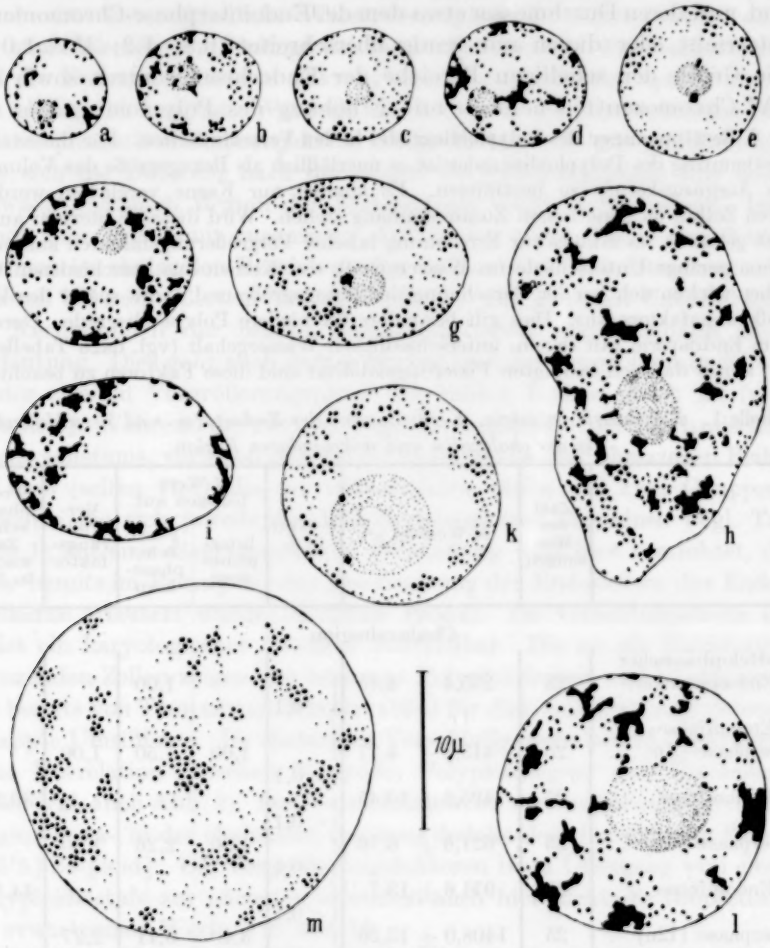

Abb. 4a—l. Endospermkerne. Nucleolus punktiert gezeichnet. b—h triploide Endomitosereihe aus der chalazalen Region des Endosperms (Verschlußzellen), i—m Endomitosestadien der Haustorienkerne (1. Phase der Haustorienkernentwicklung). a unveränderter Endospermkern der chalazalen Region. Endomitotische Interphasekerne: b triploid, d hexaploid, f dodekaploid, h 24-ploid. Kerne mit endomitotischer Teilungsstruktur: c 1. Endomitose, e 2. und g 3. Endomitose; i wahrscheinlich hexaploider Endointerphasekern aus dem Chalazalhaustorium, l Interphasekern aus dem Mikropylarhaustorium, k Endoprophasekern aus dem mikropylaren, m aus dem chalazalen Haustorium. — a—k nach Feulgenfärbung, m u. l nach Hämatoxylinfärbung

Die Chromomeren treten in drei verschiedenen Größenklassen auf: 1. die in der Endointerphase sichtbaren, deren Durchmesser 0,6—1,1 ($M = 0{,}9\,\mu$ beträgt und 2. die in isotoper Lage sichtbar werdenden, kleineren der Endoprophase (0,4—0,7; $M = 0{,}55\,\mu$), die wahrscheinlich

durch die Teilung aus den ersten hervorgegangen sind, und 3. die Chromomeren, die nach Aufgliederung der scholligen Bereiche zu beobachten sind, und deren Durchmesser etwa dem der Endointerphase-Chromomeren entspricht oder diesen nur wenig überschreitet (0,8—1,2; $M = 1{,}0\,\mu$). Die Größe der scholligen Bereiche der Endochromocentren sowie der SAT-Chromozentren nehmen mit Erhöhung des Polyploidiegrades zu.

2. Bestimmungen des Polyploidiegrades in den Verschlußzellen. Für die exakte Bestimmung des Polyploidiegrades ist es unerläßlich als Bezugsgröße das Volumen des Ausgangskernes zu bestimmen. Es können nur Kerne verglichen werden, deren Zellen im genetischen Zusammenhang stehen. Wird dieses Kriterium außer acht gelassen, so muß es zur Errechnung falscher Vergrößerungsfaktoren kommen. Schon geringe Unterschiede im Wassergehalt von Kernen aus verschiedenen Geweben wirken sich bei der Berechnung der Bezugsgröße und damit später des Vergrößerungsfaktors aus. Dies gilt besonders für niedere Polyploidiegrade. Gerade beim Endosperm mit seinem unterschiedlichen Wassergehalt (vgl. dazu Tabelle 3) und seiner dadurch bedingten Fixierungslabilität sind diese Faktoren zu beachten.

Tabelle 1. *Pedicularis palustris. Kernvolumina der Endosperm- und Verschlußzellen in der chalazalen und mikropylaren Region*

	Zahl der Messungen	M-Wert in μ^3	P-Wert in %	M-Wert bezogen auf Interphasekern	M-Wert bezogen auf Postelophasekern	Vergrößerungsfaktor	Prophasischer Zuwachs in %
Chalazalregion							
Posttelophasischer Endospermkern	25	275,4 ± 4,45			1,00		
			< 0,1				
Endomitose: Interphase (3n)	25	413,8 ± 4,77		1,00	1,50	1,00	
			< 0,1				
1. Endomitose	25	495,4 ± 10,45					39,27
			< 0,1				
Interphase (6n)	25	621,6 ± 6,76		1,50	2,26	1,50	
			< 0,1				
2. Endomitose	25	971,6 ± 13,7					44,51
			< 0,1				
Interphase (12n)	25	1408,0 ± 15,26		3,40	5,11	2,27	
			< 0,1				
3. Endomitose	5	1857,0 ± 20,2					35,05
			< 0,1				
Interphase (24n)	10	2689,0 ± 45,8		6,50	9,76	1,91	
Mikropylarregion							
Posttelophasischer Endospermkern	25	309,0 ± 6,05			1,00		
			< 0,1				
Endomitose: Interphase (3n)	25	433,4 ± 7,96		1,00	1,40	1,00	
			< 0,1				
1. Endomitose	25	507,3 ± 4,48					34,89
			< 0,1				
Interphase (6n)	25	645,2 ± 10,53		1,49	2,09	1,49	

Die beiden im Verschlußgewebe ablaufenden Endomitosereihen haben unterschiedlich große Kerne als Ausgangspunkte (Tabelle 1). Ob das durch eine unterschiedliche Wasserversorgung der mikropylaren und der chalazalen Region bedingt ist, muß offenbleiben. Zu beachten ist, daß die Endomitose in den mikropylaren Verschlußzellen später als in den chalazalen beginnt. Während die Differenz der Kernvolumina der posttelophasischen Ursprungskerne beider Reihen sehr gut gesichert ist, läßt sich die Differenz nach der ersten Vergrößerungsphase nur noch schwach und nach Beginn der Endomitosen nicht mehr sichern. Das hängt zum Teil damit zusammen, daß in der ersten Phase das Kernvolumen im chalazalen Bereich stärker zunimmt und die Streuung sich generell bei vergrößertem Volumen erhöht. Die geringen Unterschiede im Kernvolumen der beiden Endomitosereihen sind demnach ohne Bedeutung. Dies geht auch daraus hervor, daß der Vergrößerungsfaktor in der zweiten Vergrößerungsphase bei beiden Reihen gleich ist (vgl. Tabelle 1). Während der zweiten Vergrößerungsphase, des rhythmischen Kernwachstums, verteilen sich die Interphasekerne der chalazalen Reihe auf drei (selten vier), die der mikropylaren Reihe auf zwei Gruppen, zwischen die sich jeweils die Endoprophasekerne einordnen (vgl. Tabelle 1; auf eine diagrammatische Darstellung wird hier verzichtet, da diese bereits im Prinzip bei der Beschreibung der Endomitose der Endothelkerne erläutert wurde; Steffen 1955a). Im Verschlußgewebe ist meist ein karyologischer Gradient feststellbar. Die an die Haustorien grenzenden Zellen zeigen den höchsten Polyploidiegrad und häufig auch die bereits von Tschermak-Woess (1954) für *Sauromatum* beschriebene, gelappte Umrißform. Im chalazalen Verschlußgewebe besteht eine deutliche Korrelation zwischen Zellgröße, Polyploidiegrad und Nucleolengröße (vgl. auch Abb. 2). Das Verschlußgewebe wird in der mikropylaren Region hexa-, in der chalazalen meistens dodekaploid [in seltenen Fällen (0,5%) 24-ploid]. Die Vergrößerungsfaktoren beim Übergang von einer Polyploidiestufe zur nächsten erreichen auch hier nicht die theoretisch zu erwartenden Werte 1:2:4:8:16.

Die Vergrößerung der Nucleolen erfolgt gleichsinnig mit der Kernvergrößerung und in beiden Reihen in gleicher Weise (Tabelle 2). Sehr gut zu sichern ist die Differenz im Nucleolusvolumen des posttelophasischen Ausgangskernes und des ersten Endointerphasekernes, also der Zuwachs in der ersten Vergrößerungsphase. Signifikant ist auch die Differenz der Nucleolusvolumina von aufeinanderfolgenden Polyplodiegraden mit Ausnahme des Überganges von der Hexa- zur Dodekaploidie, wo die Differenz nur schwach gesichert ist. Der prophasische Zuwachs an Nucleolarsubstanz läßt sich in beiden Reihen nicht statistisch sichern, jedoch wird im Gegensatz zur mitotischen Prophase der Nucleolus in der Endoprophase nicht aufgelöst.

Tabelle 2. *Pedicularis palustris. Nucleolusvolumina in den Kernen der Endosperm- und Verschlußzellen der chalazalen und mikropylaren Region*

	Zahl der Messungen	M-Wert in μ^3	P-Wert in %	M-Wert bezogen auf Interphasekern	M-Wert bezogen auf Posttelophasekern	Vergrößerungsfaktor
Chalazalregion						
Posttelophasischer Endospermkern . .	25	7,0 ± 0,22			1,00	
			< 0,1			
Endomitose:						
Interphase (3n) . . .	25	12,3 ± 1,09		1,00	1,76	1,00
1. Endomitose	25	16,0 ± 2,00	< 0,1			
Interphase (6n) . . .	25	19,8 ± 1,25		1,61	2,83	1,61
2. Endomitose	25	21,2 ± 0,82	2,9			
Interphase (12n) . .	25	23,7 ± 1,2		1,93	3,39	1,20
3. Endomitose	5	29,9 ± 5,9	< 0,1			
Interphase (24n) . . .	10	92,0 ± 11,2		7,48	13,14	3,88
Mikropylarregion						
Posttelophasischer Endospermkern . .	25	8,14 ± 0,26			1,00	
			< 0,1			
Endomitose:						
Interphase (3n) . . .	25	12,0 ± 0,68		1,00	1,48	1,00
1. Endomitose	25	13,1 ± 1,22	< 0,1			
Interphase (6n) . . .	25	19,7 ± 1,33		1,64	2,42	1,64

3. Strukturanalyse der Haustorienkerne. Auch in den Kernen der Chalazal- und Mikropylarhaustorien laufen Endomitosen ab. Dies ist jedoch nur ein Analogieschluß, denn ein wichtiges Kriterium fehlt: der Nachweis der periodischen Wiederkehr der beobachteten charakteristischen Kernstrukturen ist nicht zu erbringen, wie weiter unten ausgeführt wird. Es läßt sich nur zeigen, daß die auftretenden Kernstrukturen der Endointer- und der Endoprophase denen der di- und triploiden Reihe entsprechen (vgl. Abb. 4a—h u. i—m), und daß diese Strukturen in Kernen unterschiedlicher Größe auftreten. Da mit der Volumenzunahme auch eine Vergrößerung der Chromozentrenareale, also eine Chromatinvermehrung, und eine Zunahme der Nucleolarsubstanz einhergehen, kann an einer endomitotischen Polyploidisierung nicht mehr gezweifelt werden.

Morphologisch lassen sich an den Haustorienkernen drei verschiedene, zeitlich aufeinanderfolgende Stadien unterscheiden. Bei den ersten Endomitosecyclen gleicht das Strukturbild in allen Einzelheiten dem der triploiden Reihe (vgl. Abb. 4a—h u. i—m). Die Verklebungstendenz der Chromomeren scheint etwas größer als bei den Kernen der Verschlußzellen zu sein, so daß im Endointerphasekern die Zahl der freien

Chromomeren geringer, aber die Zahl der Endochromozentren vermehrt ist, und deren Areale größer sind. Die Kerne des chalazalen Haustoriums sind in diesem Stadium stets größer als die des mikropylaren. Bemerkenswert ist, daß die Endomitosen in den Kernen des Haustoriums nicht immer synchron ablaufen. Dies spricht gegen eine stoffliche Induktion jedes einzelnen Endomitoseschrittes durch das umgebende Medium und widerlegt die Annahme, daß die beobachteten Strukturen durch unterschiedliche Hydratation der Kerne bedingt sind. Mit wachsender Kerngröße treten Abweichungen in der Kernstruktur auf, die von Berg als bandförmige oder kugelige Strukturen beschrieben wurden (Abb. 5a—c). Sie sind als abgewandelte Endomitosestadien aufzufassen. Das dritte, postendomitotische Stadium (Abb. 5d u. e) jedoch ist durch starke Wasseraufnahme und das Auseinanderrücken sowie die Zerteilung der Endochromozentren charakterisiert. Endomitosen scheinen in diesem Stadium nicht mehr abzulaufen. Die Umrißform dieser Kerne ist unregelmäßig.

a) Modifizierte Endomitosestadien. Die Strukturbilder der zweiten Kernentwicklungsphase sind durch das Auftreten von Fibrillen und die Tendenz zur Bildung von Sammel-Endochromozentren charakterisiert. Während bei der di- und triploiden Reihe nur bei den hochpolyploiden Kernen zwischen den Chromomeren gelegentlich achromatische Fibrillen sichtbar wurden (Steffen 1955a, S. 383), treten diese regelmäßig bei den Haustorienkernen auf (Abb. 5a—c). Dadurch erscheinen die Haustorienkerne wesentlich dichter als die polyploiden Kerne der Verschlußzonen. Da die Fibrillen in den Chromozentren gebündelt sind und von diesen peripher ausstrahlen, ändert sich das Strukturbild mit der Schnittführung und der optischen Ebene. In der Abb. 5a ist die angeschnittene Kernkuppe eines Endoprophasekernes dargestellt, in deren Inneres der Betrachter hineinschaut. Die an der Kernperipherie gelegenen Endochromozentren sind angeschnitten und zeigen deutlich die während der Endoprophase erfolgte Auflösung der scholligen Chromozentrenbereiche in Chromomeren (unten und links seitlich im Bild). In der Mitte und rechts oben liegen die Chromozentrenbereiche unterhalb der optischen Ebene, so daß nur die von ihnen gegen das Kerninnere ausstrahlenden Fibrillen deutlich abgebildet sind.

Es soll an dieser Stelle vergleichend darauf hingewiesen werden, daß auch in den Polkernen und im sekundären Embryosackkern fibrilläre Strukturen zwischen den einzelnen Chromomeren zu beobachten sind. Ob die fibrillären Strukturen durch einen Quellungseffekt oder durch Proteinvermehrung sichtbar werden, läßt sich nicht entscheiden. Wahrscheinlich sind beide Faktoren beteiligt (vgl. dazu auch Geitler 1956).

Die von den gewohnten Endomitosestrukturen abweichenden Bilder der hochpolyploiden Haustorienkerne erklären sich weiterhin durch die Tatsache, daß die Endochromozentren meist an der Kernperipherie

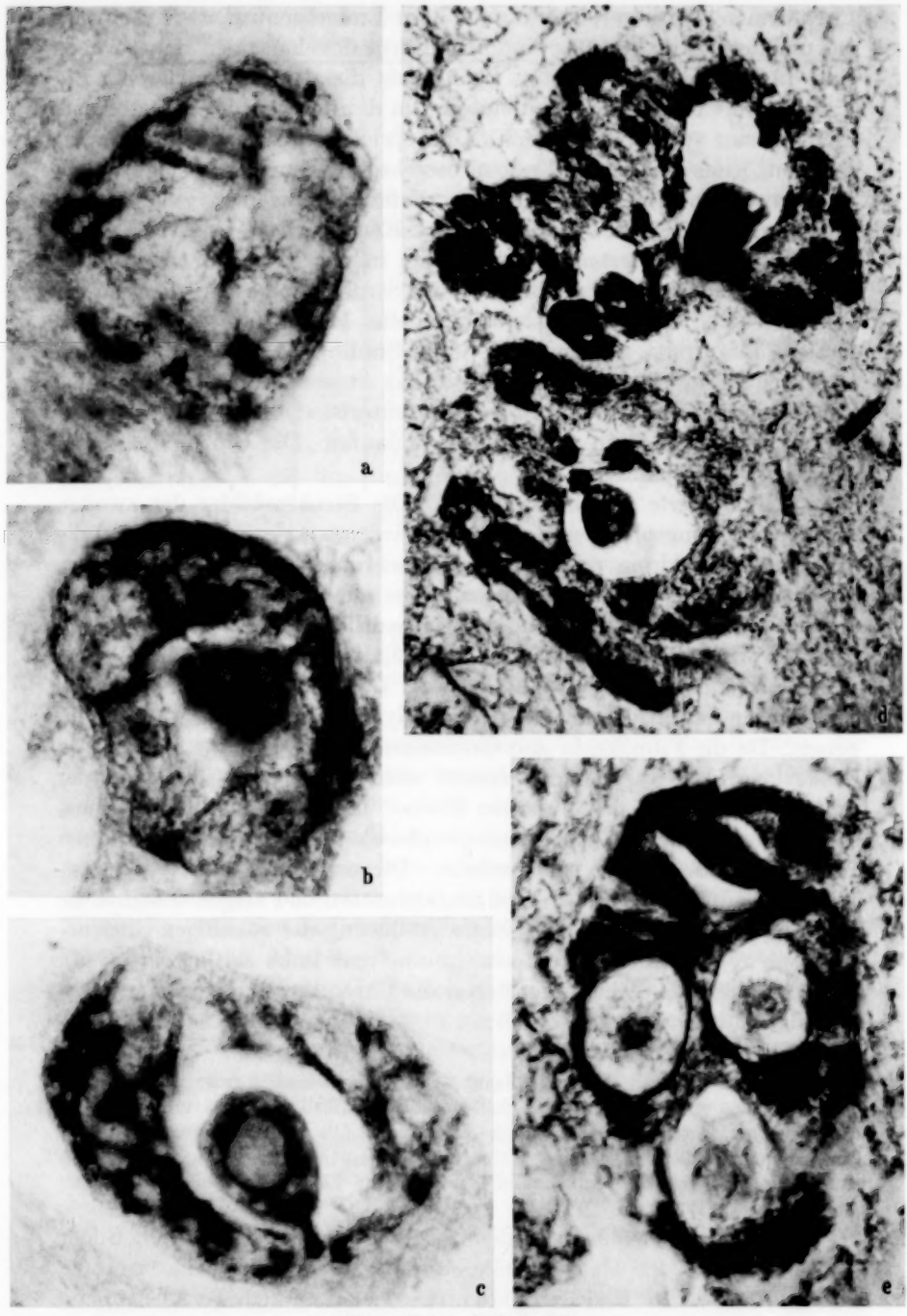

Abb. 5 (Unterschrift S. 637)

liegen und ihre Fläche mit jedem Endomitoseschritt vergrößern. Bei den Erwartungswerten des rhythmischen Kernwachstums verdoppelt sich das Kernvolumen im Verhältnis 1:2:4:8, die Oberfläche jedoch nur im Verhältnis 1:1,5:2,5:4, wenn der Kern als Kugel angenommen wird. Da für die Haustorienkerne keine Zahlenwerte vorliegen (s. weiter unten) wird vergleichsweise auf die Werte der triploiden Reihe aus der Chalazalregion zurückgegriffen. Diese Werte bleiben mit 1:1,5:3,4:6,5 hinter der Erwartungsreihe zurück. Die Oberfläche muß also in noch geringerem Maße als bei der Erwartungsreihe, nämlich im Verhältnis 1:1,3:2,3:3,5 zunehmen. Mit fortschreitendem Polyploidiegrad macht sich der Unterschied zwischen Volumen- und Oberflächenvergrößerung immer bemerkbarer. Es muß also zu einer Annäherung der Endochromozentren kommen. Es darf ferner nicht übersehen werden, daß die Größe der Kerne in diesem Fall von zwei Faktoren, der Chromatinvermehrung und der Entquellung, bedingt wird (vgl. dazu auch GEITLER 1948).

Im Endointerphasekern erscheinen die zu Sammelchromozentren verklebten Endochromozentren als dunkle, knotige Areale (Abb. 5c). Bei der Endoprophase rücken die Chromomeren weiter auseinander und die scholligen Chromozentrenbezirke werden aufgelockert (Abb. 5a u. b). Dadurch nähern sich die einzelnen Chromozentrenareale noch mehr, und es treten bandförmige Strukturen auf (Abb. 5b, rechts). Die knotigen und bandförmigen Strukturbilder sind also nichts anderes als durch die geringe Oberflächenvergrößerung modifizierte Endomitosestrukturen. BERGs Deutung dieser Bilder, wonach während einer Periode nur bandförmige und in der darauffolgenden kugelförmige Strukturen auftreten, ist demnach unrichtig.

Während dieses Stadiums wird im Endoprophasekern leicht ein asynchroner Formwechsel der Endochromozentren vorgetäuscht. Da die Areale der Endochromozentren recht ausgedehnt sind, sind die Strukturen an der Kernperipherie durch Überlagerung der Chromomeren aus den einzelnen Schnittebenen kaum auflösbar und anscheinend kompakt, während die in der Kernmitte liegenden deutliche Endoprophasestruktur zeigen.

b) Postendomitotische Haustorienkerne. In die dritte Phase der Kernentwicklung treten nur die Kerne des mikropylaren Haustoriums ein. Die Kerne des Chalazalhaustoriums sind bereits pyknotisch und von den einwachsenden Verschlußzellen verdrängt worden, wenn in den Kernen des mikropylaren Haustoriums noch Endomitosen ablaufen. Die unregelmäßige Umrißform der Haustorienkerne (Abb. 5d u. e) ist besonders

Abb. 5a—e. Haustorienkerne. a—c 2. Phase, d—e 3. Phase der Kernentwicklung. a Endoprophasekern und c Endointerphasekern aus dem Mikropylarhaustorium, b Endoprophasekern aus dem chalazalen Haustorium. d—e Kerne des Mikropylarhaustoriums mit aufgelockerten Sammel-Endochromozentren, kurz vor der Samenreife. Bei e sind unten im Bilde drei Eindellungen des Kernes quer geschnitten. In ihnen wird das eingedrungene Plasma sichtbar. — Feulgenreaktion. Vergrößerung: a—c 1200fach, d 400fach, e 580fach

auffällig, jedoch wurde keine Fragmentation des Kernes, wohl aber eine des Nucleolus beobachtet. Die Eindellungen des Kernes sind vom Plasma erfüllt. Schneidet man einen so unregelmäßig geformten Kern quer (Abb. 5e), so werden im Kern mehrere runde, plasmaerfüllte Räume sichtbar, die von BERG (Abb. 52) fälschlich als degenerierte Nucleolensubstanz gedeutet wurden.

Die dritte Phase der Kernentwicklung ist durch eine rasche, wohl im wesentlichen durch Wasseraufnahme bedingte Volumenvergrößerung, durch die unregelmäßige Umrißform, durch die Verteilung der Chromozentren auf einen größeren Raum und durch die stark vacuolisierten Nucleoli ausgezeichnet. Mit der Volumenvergrößerung geht keine Chromatinvermehrung einher, so daß die Kerne jetzt bei gleicher Vergrößerung weniger dicht als die Endointerphasekerne der zweiten Phase erscheinen. Die rasche Volumenvergrößerung führt außerdem zur Auflockerung der Sammelchromozentren und zur partiellen oder vollständigen Trennung der Einzelelemente aus den Endochromozentren (Abb. 6e). Der Zusammenhalt der Einzelelemente des Endochromozentrums nimmt also bei *Pedicularis* erst in der postendomitotischen Phase, nicht wie bei *Sauromatum* schon während der Endopolyploidisierung ab (TSCHERMAK-WOESS). Da die Endochromozentren peripher gelagert sind, wird bei der Bildung von Kernprotuberanzen in diesen Bezirken die Tendenz zur Zerlegung der Sammelchromozentren in Einzel-Endochromozentren verstärkt sein (vgl. Abb. 5d). Der Auflockerungsgrad der Sammelchromozentren kann also in den einzelnen Kernbezirken unterschiedlich sein. — Es werden aber nicht nur die Chromozentrenaggregate aufgelockert, auch die scholligen Chromozentrenareale der Einzel-Endochromozentren zeigen teilweise Chromomerenstruktur (Abb. 6e). Die dabei sichtbar werdenden zentral gelegenen Chromomeren sind größer als die peripheren.

In den SAT-Chromozentren (Abb. 6a u. d) bleibt jedoch stets das schollige für den Endointerphasekern charakteristische Areal erhalten. Die SAT-Chromozentren haften trotz der infolge von Fixierungsartefakten aufgetretenen Hofbildung um den Nucleolus (Abb. 5d u. e) fest dem Kernkörperchen an (Abb. 6a u. d). Dies kann zum Teil dadurch erklärt werden, daß beim Öffnen der Nucleolusvacuolen gegen den Kernraum die scholligen Chromozentrenbereiche in den Nucleolus eingeschlossen worden sind (Abb. 6d).

TSCHERMAK-WOESS u. HASITSCHKA (1953, S. 588) beschreiben für *Urtica pilulifera* eine ähnliche Lagerung der Trabantenchromozentren. Diese sollen oft in Eindellungen des Nucleolus liegen und abweichend von unserem Befund mit fädigen Strukturen in diesen eindringen. Nach der Abb. 10h der Autorinnen (1954, S. 96) dürften die Verhältnisse bei *Dianthus giganteus* unseren Befunden sehr ähnlich sein.

An den so fixierten SAT-Chromozentren läßt sich besonders gut die abgewandelte Form der Chromozentren zeigen (Abb. 6a—c). Bei tiefer

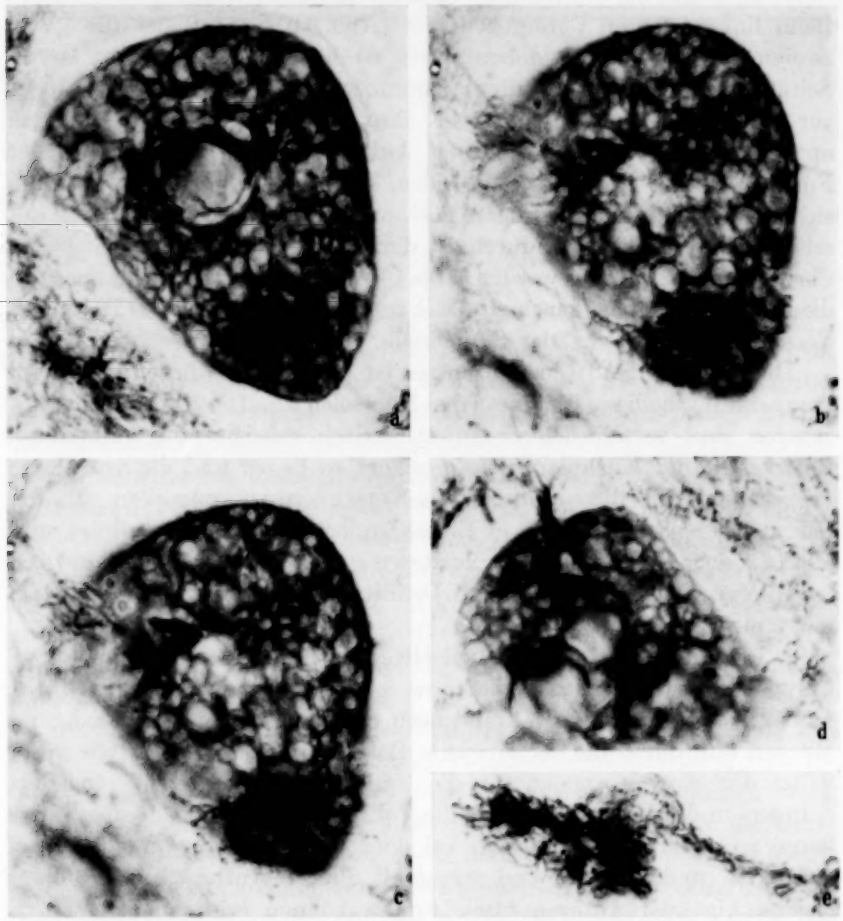

Abb. 6 a—e. Endochromozentren aus den Kernen der 3. Entwicklungsphase (Mikropylarhaustorium). a—c aufeinanderfolgende optische Schnitte durch vier dem stark vacuolisierten Nucleolus anliegende SAT-Endochromozentren. a dem Nucleolus direkt anliegende scholligе Areale, b u. c „bäumchenartige" Verzweigung der lockeren Chromozentrenbereiche. Links oben schräg, unten senkrecht zur Bildebene verlaufend. d Nucleolus mit 4 diesem anliegenden SAT-Endochromozentren und einem eingesenkten. e Sammel-Endochromozentrum aus dem übrigen Kernbereich, die Auflockerung in Einzel-Endochromozentren und der scholligen Bereiche in diesen erkennen lassend. — Feulgenreaktion. Vergr. 1200fach

Einstellung (Abb. 6a) erkennt man vier dem stark vacuolisierten Nucleolus anliegende Endochromozentren, von denen das untere fast durchgeteilt ist und damit seine Mehrfachstruktur erkennen läßt. In diesen scholligen Chromozentrenbereichen sind die Fibrillen bündelartig zusammengefaßt (Abb. 6d oben) und die Chromomeren miteinander

verklebt. Bei hoher Einstellung (Abb. 6b u. c) werden die von diesen Bezirken ausstrahlenden Fibrillen mit den eingelagerten Chromomeren sichtbar, so daß die Chromozentren bäumchenartig verzweigt erscheinen. Beim linken oberen Chromozentrum (Abb. 6b u. c) findet die „Verzweigung" schräg zur Bildebene statt, so daß man die Fibrillen fast in Seitenansicht sieht. Das untere Chromozentrum steht genau senkrecht zur Bildebene. So kann man bei ihm in den aufeinanderfolgenden optischen Ebenen die wachsende Aufteilung und Vereinzelung der Fibrillen gut erkennen. Die Fibrillen, die bereits im zweiten Stadium sichtbar waren, sind im dritten noch ausgeprägter und haben sich anscheinend verlängert. Dadurch ist der Abstand der locker gelagerten Chromomeren größer geworden. Die Chromomeren sind feulgenpositiv, die Fibrillen zunächst anucleal. Doch zeigen letztere in älteren Degenerationsstadien kurz vor der Samenreife eine positive Feulgenreaktion.

Die Lage der SAT-Chromozentren ist konstant, sie liegen mit ihrem kompakten scholligen Teil stets den Nucleolen an. Die übrigen Chromozentren sind verschieden orientiert, jedoch scheinen die kompakten Bezirke oft der Kernperipherie genähert zu liegen und die von ihnen ausgehenden Fibrillen sich frei ins Kerninnere zu erstrecken. Da die Sammelchromozentren sich in Einzel-Endochromozentren auflösen und auch die scholligen Bezirke der letzteren aufgelockert werden (Abb. 6e), ist eine genaue Abgrenzung und Definition der einzelnen Bereiche oft nicht mehr möglich.

4. Die Frage nach dem Polyploidiegrad der Haustorienkerne. Der Polyploidiegrad der Haustorienkerne ist aus folgenden Gründen nicht faßbar: 1. treten weder während noch nach der Endopolyploidisierung Mitosen auf, durch die der erreichte Polyploidiegrad bestimmbar wäre, 2. ist der Ausgangspunkt für die Endomitosecyclen nicht eindeutig definier- und meßbar, und 3. ist die Volumenzunahme der Haustoriumkerne ein komplexer Vorgang, bei dem Chromatinzunahme, Wasseraufnahme und -abgabe und eventuell Proteinsynthese oder -abbau gleichsinnig oder antagonistisch wirken können (vgl. auch GEITLER 1955a, S. 463).

Wie die Tabelle 3 zeigt, unterliegen die Endospermkerne bei gleichem Polyploidiegrad starken, zum Teil wohl durch Wasseraufnahme und -abgabe bedingten Volumenschwankungen (vgl. auch GEITLER 1955a, DUNCAN u. ROSS 1950). Daß eine Volumenzunahme nicht unmittelbar mit einer Proteinvermehrung gekoppelt sein muß, wurde kürzlich von GRUN (1956) gezeigt. Der extrem wasserreiche, nichtnucleale sekundäre Embryosackkern liefert nach seiner ersten Teilung zwei Kerne, von denen der chalazale oft kleiner ist (BERG). Bei der nachfolgenden Teilung (Abb. 1b) werden die beiden Kerne des Chalazalhaustoriums gebildet, die sofort mit der Endopolyploidisierung beginnen. Da das

Tabelle 3. *Pedicularis palustris. Kern- und Nucleolusvolumina der Endospermkerne.* (Bei der Bestimmung der Zellzahl wurde nur das Endosperm i.e.S. unter Ausschluß der Mikropylar- und Chalazalhaustorien berücksichtigt)

Stadium der Endospermentwicklung	Kernvolumen in μ^3	Nucleolusvolumen in μ^3
Sekundärer Endospermkern	9288,0 ± 5219,0	954,6 ± 154,3
Endosperm 4-zellig	736,5 ± 89,0	104,9 ± 16,5
Endosperm 8-zellig	527,2 ± 41,8	133,3 ± 13,8
Endosperm 16-zellig	478,3 ± 14,7	98,3 ± 3,8
nach Zellstreckung (Übergang zum 32-zelligen Endosperm)	1252,0 ± 97,9	393,2 ± 33,1
nach erneuter Zellteilung (64—128-zelliges Endosperm) . .	514,8 ± 12,6	65,9 ± 4,9
zu Beginn der Endomitosecyclen in der Mikropylarregion	309,0 ± 6,05	8,14 ± 0,26
in der Chalazalregion	275,4 ± 4,45	7,0 ± 0,22

Kernvolumen in den übrigen Zellen mit jeder weiteren Teilung bis zum 16-zelligen Endosperm abnimmt, sind die um zwei Teilungsschritte später gebildeten vier Kerne des Mikropylarhaustoriums kleiner als die des chalazalen. Damit ist der Ausgangspunkt für die in den Haustorienkernen ablaufenden Endomitosecyclen verschieden. Da aber schon die sekundären Embryosackkerne unterschiedlich groß sind (3800—20000 μ^3), das Verhältnis der nach der ersten Teilung entstandenen ungleich großen Kerne nicht konstant ist und die Teilungen im Endosperm unterschiedlich schnell ablaufen und somit in den verschiedenen Embryosäcken unterschiedlich große Initialkerne für die Haustorien entstehen, kann kein einheitlicher Ausgangspunkt für die Endomitosecyclen gefunden werden.

Wie die Volumenabnahme der Endospermkerne und die rasche Zunahme bei der Streckung der Endospermzellen beim Übergang vom 16- zum 32-zelligen Endosperm zeigt (Tabelle 3), reagieren die Kerne sehr stark auf Schwankungen des Wassergehalts. Es läßt sich nicht von der Hand weisen, daß auch die Schwesterkerne in den Haustorien solchen Schwankungen unterliegen können, wenngleich auch das Cytoplasma der Haustorien weniger vacuolenreich ist. Im reifenden Embryosack dürfte das Volumen der Polkerne und ihres Verschmelzungskernes zum Teil durch Wasseraufnahme bedingt sein (vgl. auch Geitler 1956). Diese extrem wasserreichen Kerne haben das Bestreben, ihr Volumen wieder herabzuregulieren. Während dieses noch nicht beendeten Normalisierungsvorganges entstehen aber die Haustorienkerne. Die Tendenz zur Volumenverminderung wird in diesen Kernen weiterbestehen, zum Teil aber kompensiert durch die nach Endopolyploidisierung erfolgende Volumenzunahme. Es sollte nun angenommen werden, daß die durch Chromatinvermehrung bedingte Volumenzunahme nach mehreren Endomitosecyclen so groß ist, daß die Tendenz zur Wasserabgabe ihr gegenüber nicht

mehr ins Gewicht fällt und jetzt definierte Gruppen im Größenklassendiagramm auftreten. Das ist aber keineswegs der Fall. Trotz mehrerer Hundert Volumenbestimmungen lassen sich keine Größenklassen feststellen. Der Polyploidiegrad der Haustorienkerne wird sich also nur sehr grob schätzen lassen, wobei Durchschnittswerte der Ausgangs- und der Endkerne verglichen werden können. Bei der Annahme eines Verdoppelungsfaktors wird man eher zu niedrige als zu hohe Polyploidiegrade schätzen, da erfahrungsgemäß der Vergrößerungsfaktor erheblich hinter der Verdoppelungsreihe zurückbleibt (vgl. GEITLER 1953). Ob Vergrößerungsfaktoren triploider Reihen übertragbar sind, ist unbekannt, aber nicht unwahrscheinlich, da nach den Untersuchungen von TSCHERMAK-WOESS u. HASITSCHKA (1953) die Vergrößerungsfaktoren bei diploiden Reihen in verschiedenen Geweben gleich sind.

Bei vorsichtiger Schätzung wird man für die Kerne der Mikropylarhaustorien 384-Ploidie annehmen dürfen (Bezugsvolumen 750 μ^3, erreichtes Kernvolumen 82000 μ^3). Der Polyploidiegrad der chalazalen Haustorienkerne dürfte niedriger sein, da das Volumen ihres Ausgangskernes größer ist und sie ihr endomitotisches Wachstum früher beenden. Für sie darf 96-Ploidie angenommen werden (Bezugsvolumen 1000 μ^3, erreichtes Endvolumen 30000 μ^3). Die Schätzung ist sehr grob, da die Bezugsvolumina der Ausgangskerne nur größenordnungsmäßig zu erfassen sind und die Verdoppelungsreihe zugrunde gelegt wurde. Wahrscheinlich sind die geschätzten Werte um zwei bis drei Potenzen zu niedrig angegeben. Es könnte noch der Versuch unternommen werden, den Polyploidiegrad nach der Größe der formbeständigen SAT-Chromozentren zu bestimmen. Dies wäre während der ersten Endomitosecyclen bei Kernen gleichen Wassergehalts theoretisch möglich. Es hat sich jedoch schon früher (STEFFEN 1955a) und auch jetzt wieder (Abb. 4e) gezeigt, daß mit steigendem Polyploidiegrad die Tendenz besteht, die SAT-Endochromozentren in ihre Einzelelemente zu zerlegen, die an sich konstante Anzahl von sechs also zu erhöhen. Diese Tendenz wird unterstützt und bis zur völligen Trennung realisiert durch die Vacuolisierung des Nucleolus (vgl. auch Abb. 6a—d). Da die Nucleolusvacuolen sich verlagern und gegen den Kernraum hin öffnen, verändert der Nucleolus seine Form unter Umständen sehr plötzlich und trennt dabei die Elemente der SAT-Endochromozentren (vgl. auch Abb. 6a, unten). Das gleiche geschieht bei Fragmentation des Nucleolus, einer Erscheinung, die bei Haustorienkernen häufig vorzukommen scheint (JACOBSON-PALEY 1920). So erklärt sich das Vorkommen überzähliger SAT-Chromozentren. Es können aber auch beim Öffnen der Nucleolusvacuolen SAT-Chromozentren partiell in den Nucleolus eingeschlossen werden (Abb. 6d). Größe und Zahl der SAT-Chromozentren sind also nicht konstant genug, um aus ihnen auf den Polyploidiegrad zu schließen. Da die Mehrfach-

struktur der SAT-Endochromozentren maskiert ist, gibt auch sie keine Anhaltspunkte für die Schätzung des Polyploidiegrades.

Diskussion

A. Embryologie

Zwar haben die Angaben über isolierte polyploide (PUNNETT) oder polyenergide Zellen und Zellgruppen im Endosperm in letzter Zeit erheblich zugenommen (Übersicht bei STEFFEN 1955b u. TSCHERMAK-WOESS 1956), doch lassen sich heute noch keine allgemein gültigen Aussagen über Entstehung und Lage dieser Bezirke machen. Neben dem anscheinend willkürlichen Auftreten niederpolyploider Bezirke scheinen die chalazale und die mikropylare Lücke bevorzugte Orte für die Entstehung polyploider Zellen zu sein. STRAUS (1954) beobachtete bei Endospermkulturen, daß die peripheren Zellen proliferierten und häufig vielkernig sowie polyploid wurden. Diese Angaben sind von besonderem Interesse, da an den genannten Orten die ernährungsphysiologischen Bedingungen besonders günstig sind.

1. Primäre Haustorienzellen und ihre Funktion

Die Tendenz zur Bildung hochpolyploider Haustorialzellen ist in der Mikropylarregion sehr ausgeprägt. Dazu können Suspensor- (GEITLER 1948) oder Endospermzellen Verwendung finden. Die Tatsache, daß diploide oder triploide Zellen lagegemäß dazu verwendet werden, sollte unsere Aufmerksamkeit erregen. Im Endosperm können sich an die hochpolyploiden Haustorialzellen Zellen von niederem Polyploidiegrad, wie z. B. bei *Pedicularis palustris* und *Veronica arvensis* (STEFFEN 1954) anschließen. Dadurch entsteht ein deutlicher karyologischer Gradient. Ob dieser karyologische Gradient auf endomitotischem Wege wie bei *Pedicularis* oder durch Kernfusionen nach polyenergiden Zwischenstufen (RAJU 1952 u. 1956, GOVINDAPPA 1955, VENKATESWARLU u. ATCHUTARAMAMURTI 1955) oder durch abgewandelte Mitosen (GEITLER 1955a) gebildet wird, ist für die weiteren theoretischen Überlegungen unerheblich.

Wenn man den Gedanken von BRINK u. COOPER (1947) folgt, ist die Überlegenheit des Endosperms gegenüber dem Gewebe der Samenanlage durch die hybride Natur des Endosperms bedingt. Der Heterosiseffekt könnte in den polyploiden Zellen also potenziert auftreten oder die an sich schon vorhandene Überlegenheit des polyploiden Gewebes verstärken.

Für eine physiologische Überlegenheit des polyploiden Gewebes spricht folgendes: nach CASPERSSON (1950) ist ein rasches Plasmawachstum nur bei vergrößertem Nucleolusvolumen möglich. Größe und Zahl der Nucleolen sind primär von der Form und Zahl der nucleolen-

bildenden Chromosomenabschnitte abhängig. Es könnte also wohl die Vorstellung entwickelt werden, daß der erhöhte Polyploidiegrad durch die Potenz mehr Nucleolensubstanz zu bilden das Plasmawachstum beeinflußt. Der Plasmazuwachs ist nach der Kern-Plasma-Mitochondrien-Relation von H. u. R. LETTRÉ (1953) der Summe des Kern- und Mitochondrienzuwachses proportional. Aus stoffwechselphysiologischen Gründen soll nun nach diesen Autoren eine Proportionalität zwischen Plasmazuwachs und Chondriosomenvermehrung bestehen. Daß die Chondriosomenzahl in den rasch wachsenden Mikropylarhaustorien von *Veronica agrestis* gegenüber der Zahl in den Endospermzellen erhöht ist, konnte nachgewiesen und statistisch gesichert werden (STEFFEN 1954). Mit der Erhöhung der Chondriosomenzahl muß auch die physiologische Aktivität oder besser gesagt die Aktionsfähigkeit zunehmen. Da in den Chondriosomen die wesentlichen biologischen Oxydationsprozesse stattfinden und die beim Elektronentransport frei werdende große Energiemenge von ihnen durch einen enzymatischen Phosphorylierungsprozeß in energiereiches Phosphat (ATP) überführt wird, muß das Haustorium im physiologisch aktivem Zustand ein besonders energiereiches Gewebe sein (vgl. die zusammenfassenden Darstellungen bei LINDBERG u. ERNSTER 1954, STEFFEN 1955c). Nach diesen theoretischen Überlegungen müßten die Haustorialzellen den Zellen der Samenanlage überlegen sein. Durch zellphysiologische Untersuchungen (PRELL 1952) ist bekannt, daß polyploide Zellen gegenüber diploiden eine erhöhte Fähigkeit zur Stoffaufnahme besitzen. Ohne die zellphysiologischen Befunde verallgemeinern zu wollen, darf wohl die Vermutung ausgesprochen werden, daß dem karyologischen Gradienten in der Samenanlage ein physiologischer Gradient entspricht.

Nach unseren heutigen Kenntnissen sind die Haustorien zu definieren als: raschwüchsige Zellen oder Zellgruppen mit polyploiden Kernen und erhöhter Chondriosomenzahl, die die Fähigkeit zur Kern- und Zellteilung verloren haben und infolge ihrer physiologischen Überlegenheit niederpolyploide Zellen zu verdauen vermögen.

II. Sekundäre Haustorialzellen

Bezieht man die sekundären Haustorialzellen mit in die Betrachtungen ein, so wird deutlich, daß sie keine oder eine nur geringe Digestionskraft gegenüber dem Gewebe der Samenanlage und keine gegenüber dem Endosperm besitzen. Das kann mit ihrem niederen Polyploidiegrad und dem damit geringeren Grad an Überlegenheit zusammenhängen. Ihre Haustorialfunktion wird erst dann sichtbar, wenn die primären Haustorien degenerieren wie beim Chalazalhaustorium von *Pedicularis*. Man könnte ihre Hauptaufgabe in einer Zuleitungsfunktion vermuten, die sie als vermittelnde Zwischenglieder in einem physiologi-

schen Gradienten ausüben könnten. Sicher ist allein, daß sie nach Umdifferenzierung sekundär als Verschlußzellen fungieren wie bei *Pedicularis palustris* und *silvatica* und *Utricularia flexuosa* (KHAN 1955). Daß dies bei *Utricularia* eine Sekundärfunktion ist, geht daraus hervor, daß bei einer anderen Art, *U. reticulata*, der Verschluß der mikropylaren Lücke durch lamellös verdickte Epidermiszellen der Samenanlage erfolgt (KAUSIK u. RAJU 1955).

B. Cytologie

I. Der Endomitosetyp

Die bei *Pedicularis palustris* in den Verschluß- und Haustorialzellen des Endosperms ablaufenden Endomitosen schließen sich in ihrem Erscheinungsbild an den von TSCHERMAK-WOESS und HASITSCHKA beschriebenen maskierten Typ der Angiospermenendomitose an oder lassen sich wie bei den Haustorialkernen auf diesen zurückführen.

Vergleicht man die bei *Pedicularis* vorkommende Endomitose mit den bisher im Endosperm beschriebenen Endopolyploidisierungsvorgängen, so findet man, daß sie nicht vergleichbar ist mit dem von GEITLER (1955a) an den chalazalen Endospermkernen von *Allium ursinum* beobachteten Modus. Dieser ist nach GEITLERs Worten als extreme Hemmung oder Umbildung einer Mitose aufzufassen. Die Strukturbilder der maskierten Endomitose bei *Pedicularis* bieten keine Vergleichsmöglichkeit mit den von GEITLER veröffentlichten Bildern einer permanent prophasischen Struktur. Eine orientierte Bündelung von Chromonemata wie bei den Quadruplochromosomen von *Allium* (GEITLER 1955a) oder bei den vielwertigen Strukturen von *Zea* (DUNCAN u. ROSS 1950) ließ sich bei *Pedicularis* nicht erkennen. Die Chromonemata werden lediglich in den scholligen Arealen der Endochromozentren zusammengehalten. Dies zeigt sich besonders deutlich an den aufgelockerten Kernen der dritten Entwicklungsphase. Die dritte Entwicklungsphase der Haustorialkerne muß als postendomitotisch bezeichnet werden, auch wenn ihr die von TSCHERMAK-WOESS und HASITSCHKA (1953, S. 594) als Charakteristica dieser Phase angeführten Merkmale: „schmierige Beschaffenheit des Heterochromatins und Verringerung des Nucleolusvolumens" fehlen und nur die Volumenvergrößerung und die Auflockerung der Chromatinsubstanz mit den Merkmalen der Autorinnen übereinstimmen. Die Volumenzunahme dieser Phase dürfte zum Teil durch Hydratation bedingt sein. Da aber die Nucleolensubstanz meßbar vermehrt wird, ist die Bezeichnung „unechtes Wachstum" (GEITLER 1953, S. 63) nicht angebracht.

II. Bedeutung der präendomitotischen Vergrößerungsphase

Die mit Chromatinvermehrung gekoppelte Volumenvergrößerung während der präendomitotischen ersten Wachstumsphase beträgt beim

diploiden Kern 43, bei den triploiden Kernen in der Chalazalregion 50 und im mikropylaren Bereich 40% des posttelophasischen (Definition nach DOLEŽAL u. TSCHERMAK-WOESS 1955) Ursprungkernes. Sie zeigt also nur geringe Schwankungen. Eine weitere, statistisch gesicherte Angabe über die präendomitotische Volumenzunahme (66%) liegt für die endopolyploiden Kerne des Antherentapetums von *Gentiana cruciata* (STEFFEN u. LANDMANN, unveröffentlicht) vor. Diese vier, statistisch gesicherten Zahlenangaben genügen gerade, um die Existenz dieses Phänomens, jedoch nicht um seine allgemeine Verbreitung zu beweisen. Da aber in der Literatur der Vorgang (allerdings ohne messende Auswertung) oft beschrieben wurde, kann an einer allgemeinen Gültigkeit nicht mehr gezweifelt werden (Literatur bei STEFFEN 1955a).

Wenn, wie GEITLER (1955b) annimmt, in der Endointerphase eine DNS-Vermehrung mit Chromosomenreproduktion stattfindet, muß dieses Prinzip auch für den Anfangskern einer Reihe, also z. B. den Endointerphasekern 2n gelten. Der Kern muß sich also durch Chromatinvermehrung, wie von uns belegt, vom posttelophasischen Kern der letzten Mitose unterscheiden. Die Chromatinvermehrung muß im Zeitraum zwischen Posttelophase und Endointerphase 2n (bzw. 3n), also in der präendomitotischen Vergrößerungsphase erfolgt sein. Der Endointerphasekern 2n ist demnach bereits in den Endomitosecyclus eingetreten, denn die Endoprophase bewirkt nach GEITLER nichts anderes als die Verteilung oder Trennung der vorgebildeten Chromatinsubstanz. Für die Richtigkeit dieser Auffassung spricht die Tatsache, daß auch Zellen, die nur diese Vergrößerungsphase durchgemacht haben, wie die endopolyploiden Folgezellen Cellulosebalken bilden können. Die Induktion der Endomitose muß also vor dieser ersten Vergrößerungsphase erfolgt sein.

Bei dieser ersten Wachstumsphase muß das Hauptgewicht auf die faßbare Chromatinvermehrung gelegt werden. An der Volumenvergrößerung können außerdem noch andere zur Zeit nicht analysierbare Faktoren beteiligt sein. So zeigt sich an unserem Beispiel, daß zwar die Endointerphasekerne 2n und 3n gleich groß sind, aber die von ihnen ausgehenden Reihen gesicherte Differenzen in ihren Kernvolumina aufweisen. Da in diese erste Volumenvergrößerung noch unbekannte Faktoren eingehen, mag es aus praktischen Erwägungen richtig sein, wie bisher für die annähernde Bestimmung des Polyploidiegrades den posttelophasischen Kern der letzten Mitose als Bezugsgröße zu wählen.

III. Vergleich der di- und triploiden Endomitosereihen

Beim Vergleich von Endomitosereihen ist zu bedenken, daß außer den artspezifischen noch individuelle Schwankungen des Vergrößerungsfaktors möglich sind, wie TSCHERMAK-WOESS und DOLEŽAL u. TSCHERMAK-

Woess (1955) gezeigt haben. Es wäre also ideal, wenn man Endomitosereihen am selben Organ derselben Pflanze vergleichen könnte. Im Fall von *Pedicularis palustris* ist dies jedoch unmöglich, da die Endomitosereihen zu verschiedenen Zeiten in verschiedenen Geweben beginnen, also in Fruchtknoten unterschiedlicher Größe ablaufen. Um individuelle Streuungen so weit wie möglich auszuschließen, ist die Zahl der untersuchten Individuen zu erhöhen.

Bisher liegen nur vergleichende Untersuchungen an Reihen mit Ausgangskernen gleichen Polyploidiegrades (Tschermak-Woess u. Hasitschka 1954) vor. Nach diesen Untersuchungen soll der Vergrößerungsfaktor in verschiedenen Geweben nur wenig verändert sein. Die absoluten Werte können jedoch bei Kernen „gleichen Polyploidiegrades aus verschiedenen Geweben und sogar Zellschichten auffallend schwanken" (Doležal u. Tschermak-Woess). Bei *Pedicularis* wurden erstmalig zwei Endomitosereihen beschrieben, von denen die eine diploiden, die andere triploiden Ursprungs ist. Vergleicht man die Werte beider Reihen miteinander, so ist der Volumenunterschied der posttelophasischen Ursprungskerne im Integumentgewebe (Steffen 1955a) und im chalazalen Verschlußgewebe gut gesichert, nach der ersten Wachstumsperiode ist jedoch keine Sicherung mehr möglich. Nach Einsetzen des Endomitosecyclus lassen sich die Differenzen sehr gut sichern. Die diploiden, unveränderten Integumentkerne (295 μ^3) sind größer als die triploiden (275 μ^3). Nach der ersten Wachstumsperiode erfolgt ein Ausgleich. Daß diese erste Volumenvergrößerung, wie bereits ausgeführt, von mehreren Faktoren beeinflußt ist und somit nicht allein von der Chromatinvermehrung abhängt, zeigt das Verhältnis der Volumina der tetra- (837 μ^3) und der hexaploiden (622 μ^3) Kerne. Erst nach der dritten Endomitose (vgl. Tabelle 1) haben die Kerne der triploiden Reihe (2689 μ^3) den Vorsprung der diploiden (2262 μ^3) aufgeholt und sind größer als diese geworden. Daraus ist also zu schließen, daß bei niederen Polyploidiestufen ein Störfaktor die Relation Chromatinsubstanz — Kernvolumen überdeckt, die später, bei den höheren und deutlicher unterschiedenen Polyploidiestufen (16- u. 24-Ploidie) zutage tritt. Für diese Auffassung sprechen folgende Tatsachen: 1. Bei den beiden triploiden Endomitosereihen der Verschlußzellen gleichen sich die anfangs unterschiedlichen Kernvolumina im Laufe der Endomitosecyclen soweit an, daß ihre Mittelwerte nicht mehr gegeneinander zu sichern sind; die Größe der Ausgangskerne ist hier nicht durch den Polyploidiegrad, sondern durch ihren unterschiedlichen Wasser- oder Proteingehalt bedingt. 2. Anders bei den durch Polyploidiegrade unterschiedenen Kernen der di- und triploiden Reihen. Auch hier sind anfangs Unterschiede im Kernvolumen vorhanden, die sogar die diploiden Kerne größer erscheinen lassen. Bei den höheren und damit stärker unterschiedenen

Polyploidiestufen tritt dann jedoch die Relation Chromatinsubstanz — Kernvolumen zutage.

Allgemein gültige Aussagen über die Volumenvergrößerung vor oder zu Beginn der Endoprophase lassen sich auf Grund unserer Befunde nicht geben. Die Werte schwanken erheblich (diploide Reihe: 55,2; 38,9; 47,4 u. 55,6%, triploide Reihe in der Chalazalregion: 39,3; 44,5 u. 35,1% und im mikropylaren Bereich: 34,9%) und betragen etwa $^1/_3$ bis $^1/_2$ des Volumens des zugehörigen Interphasekernes. Von TSCHERMAK-WOESS u. HASITSCHKA (1953) wird auf Grund des χ^2-Testes eine Vergrößerung um $^1/_3$ angenommen. Feststeht, daß zur Einleitung einer Endomitose eine geringere Volumenvergrößerung als zur Einleitung der Mitose nötig ist (vgl. auch die gleichlautenden Beobachtungen bei TSCHERMAK-WOESS u. HASITSCHKA 1953 und DOLEŽAL u. TSCHERMAK-WOESS). Die Endomitose schaltet sich in die zur Volumenverdoppelung führende Wachstumsperiode ein, während vor Mitosebeginn die Volumenverdoppelung erfolgt ist.

Sind die Endomitosecyclen einmal angelaufen, so sind sie relativ autonom. Dies geht aus den gleichzeitig beobachteten Endointer- und Endoprophasestrukturen innerhalb derselben Haustorialzelle hervor. Vielleicht ist nur eine einmalige Induktion nötig um die Cyclen zu starten. Wäre eine fortwährende stoffliche Beeinflussung erforderlich, so dürften im Milieu derselben Zelle keine Kerne unterschiedlichen Polyploidiegrades und unterschiedlicher endomitotischer Struktur vorkommen.

Die Vergrößerungsfaktoren der di- und triploiden Reihen sind unterschiedlich. Während die der diploiden Reihe entsprechend den bisherigen Angaben der Literatur mit erhöhtem Polyploidiegrad abnehmen (1,98; 1,81; 1,5 u. 1,7) scheinen bei der triploiden Reihe die Vergrößerungsfaktoren in dem von uns erfaßten Bereich anzusteigen (1,5 bzw. 1,49; 2,27; 1,91). Allgemeine Schlüsse daraus zu ziehen, wäre verfrüht. Jedenfalls sind die Vergrößerungsfaktoren diploider Reihen nicht auf triploide übertragbar.

IV. Nucleolenwachstum

Bei der Endomitosereihe mit diploidem Ausgangspunkt erfolgt in der ersten Vergrößerungsphase, also vor Beginn des eigentlichen rhythmischen Kernwachstums eine Vergrößerung des Nucleolusvolumens um 245% der ursprünglichen Nucleolusgröße, bei der triploiden Reihe nur eine Vergrößerung um 76%. Die Vergrößerung ist also in der triploiden Reihe nicht so ausgeprägt. Beiden Reihen gemeinsam ist eine Volumenzunahme des Nucleolus während des rhythmischen Kernwachstums, wobei die absoluten Werte der triploiden Reihe allerdings hinter denen der diploiden zurückbleiben. Es besteht also keine einfache Beziehung

zwischen Polyploidiegrad und Nucleolengröße. Wie bereits früher betont wurde (STEFFEN 1955a), wird die Potenz zur Bildung von Nucleolarsubstanz mit dem Polyploidiegrad erhöht. Je höher der Polyploidiegrad, um so stärker dürfte die Potenz wirksam werden. Der überraschend hohe Vergrößerungsfaktor 3,88 beim Übergang von 12- zu 24-Ploidie (1,83 beim Übergang von 8- zu 16-Ploidie) könnte für das verspätete Wirksamwerden dieser Potenz und für die Einwirkung von physiologischen Faktoren sprechen, die die Nucleolengröße in den Kernen der Verschlußzellen zunächst niedriggehalten haben. Auffällig ist jedenfalls, daß dieser hohe Faktor zu der Zeit auftritt, in der erstmalig das Kernvolumen der triploiden Reihe das der diploiden übersteigt. Es soll auf Spekulationen hier nicht näher eingegangen werden, da das Problem zu komplex ist, und die einwirkenden physiologischen Faktoren, die Zusammensetzung und der Quellungszustand der Nucleolensubstanz unbekannt sind. Wie aus elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Nucleolen anderer Objekte (STEFFEN, unveröffentlicht) hervorgeht, weisen die Nucleolen keine morphologisch definierten Strukturen (z. B. Membran oder Binnenstrukturen) auf. Aus diesem Grunde wäre eine Volumenvergrößerung durch Quellung der Histoneiweiße ohne weiteres möglich. Daß eine Korrelation zwischen Nucleolengröße und Wassergehalt der Zelle (grob beurteilt nach der Vacuolengröße) besteht, geht aus der Tabelle 3 hervor, bei der bei gleichem Polyploidiegrad ganz unterschiedliche Nucleolengrößen auftreten. Wenn die Nucleolengröße in so weitem Rahmen (von 7 bis 954 μ^3) variiert, erscheint jede Beziehung zwischen Polyploidiegrad und Nucleolengröße fraglich. Aus der Tabelle 3 geht hervor, daß die Nucleolen- und Korngröße in den Endospermzellen allmählich herabreguliert wird. Damit wird der gegenläufige Prozeß, der im achtkernigen Embryosack zur Vergrößerung der Polkerne und ihrer Nucleolen geführt hat, wieder kompensiert. In diesen Regulationsvorgang ist eine einmalige Vergrößerung von Kern- und Nucleolusvolumen eingeschaltet. Bei der unter Wasseraufnahme erfolgenden Streckung der Endospermzellen (Übergang vom 16- zum 32-Zellstadium) vergrößern sich die Zellkerne erheblich. Daß diese Volumenvergrößerung durch Wasseraufnahme bedingt wird, wird durch die Schnelligkeit, mit der die Dispersion der feulgenpositiven Substanz erfolgt, wahrscheinlich gemacht. Es liegt nahe, auch für die plötzliche und gleichzeitig erfolgende Vergrößerung der Nucleolen Quellungseffekte anzunehmen.

Im Gegensatz zu dem oben beschriebenen Regulationsvorgang erfolgt die Nucleolenvergrößerung bei der Endomitose koordiniert mit Chromatinvermehrung. Der Ausgangspunkt für diese Vergrößerung ist ein relativ kleiner und wahrscheinlich wenig gequollener Nucleolus. Wollte man jede Koordinierung von Polyploidiegrad und Vermehrung

von Nucleolensubstanz leugnen, müßte man eine feste Beziehung zwischen Polyploidiegrad und Quellungszustand fordern. Daß die Potenz zur Vermehrung der Nucleolarsubstanz physiologischen Faktoren unterworfen ist, geht aus dem Vergleich der absoluten Werte der di- und der triploiden Reihe hervor.

Zusammenfassung

Die Endospermentwicklung bei *Pedicularis palustris* und die Volumenänderungen der Endospermkerne werden beschrieben, die Bedeutung eines karyologischen Gradienten im Endosperm und die Funktion der Haustorien diskutiert.

Durch endomitotische Polyploidisierung entstehen im diploiden Integumentgewebe der Samenanlage 32-ploide Endothelzellen, im triploiden Endosperm hexa- (Mikropylarregion) bis dodekaploide (selten 24-ploide) Verschlußzellen (Chalazalregion) und mindestens 96- (Chalazalhaustorium) bis 384-ploide Haustorien (Mikropylarhaustorium). Der Polyploidiegrad der Haustorien läßt sich nur schätzen, da die Bezugsgröße nicht exakt zu bestimmen ist, und der Endomitosecyclus während eines Prozesses einsetzt, der die Kerngröße der Endospermzellen herabreguliert und somit antagonistisch zur Volumenvergrößerung der Endopolyploidisierung wirkt und verhindert, daß definierte Größenklassen entstehen.

Die Strukturbilder weichen in den Haustorialkernen von dem sonst vorkommenden Typ der maskierten Endomitose in den höheren Polyploidiegraden durch das regelmäßige Auftreten fibrillärer Verbindungen zwischen den Chromomeren und die Tendenz zur Bildung von Sammel-Endochromozentren ab. Letztere wird bedingt durch die noch andauernde Entquellung und die geringe Oberflächenvergrößerung bei zunehmender Größe der Chromozentrenareale, die zur Annäherung der peripher gelegenen Endochromozentren und zur Aggregatbildung führt. Bei einer postendomitotischen Kernvergrößerung werden wohl infolge von Hydratation die Sammel-Endochromozentren, die Endochromozentren und die scholligen Areale dieser zum Teil in ihre Einzelelemente zerlegt.

Es lassen sich folgende Tatsachen von allgemeinerem cytologischen Interesse ableiten: 1. Die präendomitotische Vergrößerungsphase ist in den Endomitosecyclus einzubeziehen, sie bereitet durch Chromatinvermehrung die Endoprophase als Verteilungsphase vor. 2. Die Endomitosen innerhalb einer mehrkernigen Zelle laufen autonom ohne synchronisierende Wirkung des gleichen Milieus ab. Dies führt innerhalb einer Haustoriumzelle zu Kernen unterschiedlichen Polyploidiegrades und verschiedener Endomitosestruktur. 3. Beim Vergleich der diploiden Endomitosereihe mit den triploiden zeigte sich, daß die Vergrößerungsfaktoren der diploiden Reihe nicht auf die triploide übertragbar sind.

Literatur

BAJER, A., and J. MOLÈ-BAJER: Cinematographic studies on mitosis in endosperm. II. Chromosome, cytoplasmic and Brownian movements. Chromosoma **7**, 558—607 (1956). — BERG, R. Y.: Development and dispersal of the seed of Pedicularis silvatica. Nytt. Mag. Bot. **2**, 1—60 (1954). — BRINK, R. A., and D. C. COOPER: The endosperm in seed development. Bot. Rev. **13**, 423—541 (1947). — CASPERSSON, T. O.: Cell Growth and Cell Function. New York 1950. — CRÉTÉ, P.: Répartition et intérêt phylogénétique des albumens à formations haustoriales chez les Angiospermes et plus particulièrement chez les Gamopétales. Ann. des Sci. natur. Bot., Sér. XI, **12**, 131—191 (1951). — D'AMATO, F.: New evidence on endopolyploidy in differentiated plant tissues. Caryologia (Pisa) **4**, 121—144 (1952). — Polyploidy in the differentiation and function of tissues and cells in plants. A critical examination of the literature. Caryologia (Pisa) **4**, 311—358 (1952). — DOLEŽAL, R., u. E. TSCHERMAK-WOESS: Verhalten von Eu- und Heterochromatin und interphasisches Kernwachstum bei Rhoeo discolor; Vergleich von Mitose und Endomitose. Österr. bot. Z. **102**, 158—185 (1955). — DUNCAN, R. E., and J. G. ROSS: The nucleus in differentiation and development. III. Nuclei of maize endosperm. J. Hered. **41**, 259—268 (1950). — GEITLER, L.: Das Wachstum des Zellkerns in tierischen und pflanzlichen Geweben. Erg. Biol. **18**, 1—54 (1941). — Notizen zur endomitotischen Polyploidisierung in Trichocyten und Elaiosomen sowie über Kernstrukturen bei Gagea lutea. Chromosoma **3**, 271—281 (1948). — Endomitose und endomitotische Polyploidisierung. In Protoplasmatologia, Bd. VIc. Wien 1953. — Riesenkerne im Endosperm von Allium ursinum. Österr. bot. Z. **102**, 460—475 (1955a). — Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle. Fortschr. Bot. **17**, 1—15 (1955b); **18**, 1—11 (1956). — GLIŠIC, LJ. M.: Ein Versuch zur Verwertung der Endospermmerkmale für typologische und phylogenetische Zwecke innerhalb der Scrophulariaceen. Bull. Inst. Jard. Bot. Univ. de Beograd **4**, 42—73 (1937). — GOVINDAPPA, D. A.: Embryological studies in Xyris pauciflora Willd. Proc. Indian Acad. Sci., Sect. B **42**, 47—57 (1955). — GRAFL, I.: Cytologische Untersuchungen an Sauromatum guttatum. Österr. bot. Z. **89**, 81—118 (1940). — GRUN, P.: Changes during interphase in nucleic acid and protein content of Tradescantia root tip nuclei. Exper. Cell Res. **10**, 29—39 (1956). — JACOBSON-PALEY, R.: Sur le haustorium et la formation de l'albumen dans l'Arum maculatum L. Bull. Soc. bot. Genève **12**, 55—65 (1920). — KAUSIK, S. B., and M. V. S. RAJU: A contribution to the floral morphology and embryology of Utricularia reticulata Smith. Proc. Indian Acad. Sci., Sect. B **41**, 155—166 (1955). — KHAN, REAYAT: A contribution to the embryology of Utricularia flexuosa Vahl. Phytomorphology (Delhi) **4**, 80—117 (1954). — KRISHNA IYENGAR, C. V.: Development of seed and its nutritional mechanism in Scrophulariaceae. Part I. Ramphicarpa longiflora Benth., Centranthera hispida Br. and Pedicularis zeylanica Benth. Proc. Nat. Inst. Sci. India **8**, 249—261 (1942). — LETTRÉ, H. u. R.: Kern-Plasma-Mitochondrien-Relation als Zellcharakteristikum. Naturwiss. **40**, 203 (1953). — LINDBERG, O., and L. ERNSTER: Chemistry and physiology of mitochondria and microsomes. Protoplasmatologia **3**, A 4 (1954). — PRELL, H.: Untersuchungen über die Aufnahme von Anelektrolyten in Zellen di- und polyploider Pflanzen. Planta (Berl.) **40**, 480—508 (1952). — PUNNETT, H. H.: Cytological evidence of hexaploid cells in maize endosperm. J. Hered. **44**, 257—259 (1953). — RAJU, M. V. S.: Embryology of the Passifloraceae. Current Sci. **21**, 288—289 (1952). — Embryology of the Passifloraceae. I. Gametogenesis and seed development of Passiflora calcarata Mast. J. Indian Bot. Soc. **35**, 126—138 (1956). — RUTISHAUSER, A.: Genetics of endosperm. Nature (Lond.) **176**, 210—211 (1955a). — Das Verhalten der Chromosomen in arteigener und artfremder Umgebung. Vjschr. naturforsch. Ges. Zürich

100, 17—26 (1955b). — SCHACHT, H.: Entwicklungsgeschichte des Pflanzenembryo. Preisschrift. Amsterdam 1850. — Über die Zellstoffäden in der vorderen Aussackung des Embryosacks von Pedicularis silvatica. Jb. wiss. Bot. **3**, 339—351 (1863). — SCHMID, E.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Scrophulariaceae. Beih. bot. Cbl., Abt. 1 **20**, 175—299 (1906). — STEFFEN, K.: Cytological observations on endosperm haustories. Rapp. et comm., Sect. 8a Morph. embr. 8. Congrès internat. de Bot. Paris 1954, S. 250. — Kern- und Nucleolenwachstum bei endomitotischer Polyploidisierung. Planta (Berl.) **45**, 379—394 (1955a). — Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung in Fortschr. Bot. **17**, 51—106 (1955b). — Chondriosomen und Mikrosomen (Sphärosomen) in Handbuch Pflanzenphysiologie, Bd. 1, S. 574—613. (1955c). — STRAUS, J.: Maize endosperm tissue growth in vitro. II. Morphology and cytology. Amer. J. Bot. **41**, 833—839 (1954). — TISCHLER, G.: Über die Verwandlung der Plasmastränge in Cellulose im Embryosack bei Pedicularis. Schr. physik.-ökonom. Ges. Königsberg i. Pr. **40**, 1—18 (1899). — TSCHERMAK-WOESS, E.: Über die Phasen der Endomitose, Herkunft und Verhalten der „nuclealen Körper" und Beobachtungen zur karyologischen Anatomie von Sauromatum guttatum. Planta (Berl.) **44**, 509—531 (1954). — Karyologische Pfanzenanatomie. Protoplasma (Wien) **47**, 798—834 (1956). — TSCHERMAK-WOESS, E., u. G. HASITSCHKA: Veränderungen der Kernstruktur während der Endomitose, rhythmisches Kernwachstum und verschiedenes Heterochromatin bei Angiospermen. Chromosoma **5**, 574—614 (1953). — Über die endomitotische Polyploidisierung im Zuge der Differenzierung von Trichromen und Trichocyten. Österr. bot. Z. **101**, 79—117 (1954). — VENKATESWARLAU, J., and B. ATCHUTARAMAMURTI: Embryological studies in Boraginaceae. I. Coldenia procumbens Linn. J. Indian Bot Soc. **34**, 235—247 (1955).

Prof. Dr. K. STEFFEN, (16) Marburg a. d. Lahn, Botanisches Institut, Pilgrimstein 4

Autorenverzeichnis des 47. Bandes

Ahlgrimm, E.-D., Beiträge zur Frage der Biogenese sekundärer Stoffwechselprodukte dargestellt an Mentha piperita L. und an Fagopyrumarten. S. 255

Bellartz, S., Das Pollenschlauchwachstum nach arteigener und artfremder Bestäubung einiger Solanaceen und die Inhaltsstoffe ihres Pollens und ihrer Griffel. S. 588

Bosshard, H. H. s. Frey-Wyssling, A., und K. Mühlethaler. S. 115

Frank, H., und O. Renner, Über Verjüngung bei Hedera helix L. S. 105

Frey-Wyssling, A., H. H. Bosshard und K. Mühlethaler, Die submikroskopische Entwicklung der Hoftüpfel. S. 115

Geitler, L., Automixis, Geschlechtsbestimmung und Pyknose von Gonenkernen bei Cymbella aspera. S. 359

Haccius, B., und H. Nies, Über die Wirkung von 2,3,5-Trijodbenzoesäure und von 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure auf die Abgliederung entspreiteter Blattstiele. S. 613

Hofmann, G., Verdunstung und Tau als Glieder des Wärmehaushalts. S. 303

Jeremias, K., Zur Physiologie der Frosthärtung. (Unter besonderer Berücksichtigung von Winterweizen.) S. 81

Kiermayer, O., Eine einfache Arbeitsweise für den Koleoptilzylindertest. S. 527

Klemm, G., Untersuchungen über den Transpirationswiderstand der Mesophyllmembranen und seine Bedeutung als Regulator für die stomatäre Transpiration. S. 547

Köhler, D., Über die Beziehungen zwischen der Länge von Haferkoleoptilen und der Wachstumsgeschwindigkeit ihrer isolierten Ausschnitte. S. 159

Kowalewicz, R., Zur Kenntnis von Epilobium und Oenothera. 1. Über die Rhaphidenschläuche. 2. Über intergenerische Transplantation. S. 501

Lambertz, P. s. Schumacher, W. S. 47

Madan, Ch. L., Die Verteilung der freien Aminosäuren in der Pflanze und ihre Beeinflussung durch photoperiodische Induktion. (Untersuchungen an Kalanchoë Bloßfeldiana). S. 53

Mayer, L., Wachstum und Organbildung an in vitro kultivierten Segmenten von Pelargonium zonale und Cyclamen persicum. S. 401

Mohr, H., Die Abhängigkeit des Protonemawachstums und der Protonemapolarität bei Farnen vom Licht. S. 127

Moritz, O., und H. L. Rohn, Untersuchungen zum Problem der serologischen Fernreaktionen. S. 16

Mühlethaler, K. s. Frey-Wyssling, A., und H. H. Bosshard. S. 115

Nies, H. s. Haccius, B. S. 613

Renner, O., Europäische Wildarten von Oenothera III. S. 219

— s. Frank, H. S. 105

Reznik, H., und R. Urban, Die Aufnahme ^{14}C-markierter Ligninbausteine in Fichtennadeln. S. 1

Röbbelen, G., Über die Protochlorophyllreduktion in einer Mutante von Arabidopsis thaliana (L) Heynh. S. 532

Rohn, H. L. s. Moritz, O. S. 16

Sander, H., Studien über Bildung und Abbau von Tomatin in der Tomatenpflanze. S. 374

Schlegel, H.-G., Die Verwertung organischer Säuren durch Chlorella im Licht. S. 510

Schumacher, W., und P. Lambertz, Über die Beziehungen zwischen der Stoffaufnahme durch Blattepidermen und der Zahl der Plasmodesmen in den Außenwänden. S. 47

Schwinck, L., Nachweis von Adenosintriphosphorsäure (ATP) in Grünalgen und Helodea sowie Einbau von radioaktivem Phosphor (^{32}P) bei der Photosynthese. S. 165

Sprecher, E., Beiträge zur Frage der Biogenese sekundärer Pflanzenstoffe der Weinraute (Ruta graveolens L.). S. 323

Steffen, K., Endomitosen im Endosperm von Pedicularis palustris L. S. 625.

Urban, R. s. Reznik, H. S. 1

Woll, E., Zur Abgabe von Nucleolusstoffen an das Cytoplasma. S. 299

Ziegler, H., Untersuchungen über die Leitung und Sekretion der Assimilate. S. 447